

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
CENTRO UNIVERSITARIO DEL SUR OCCIDENTE
CARRERA DE AGRONOMÍA TROPICAL
TÉCNICO EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA
PRÁCTICA PROFESIONAL SUPERVISADA**



Informe final de servicios realizados en el Laboratorio de Control de Calidad de Plagas, del Departamento de Agronomía, Ingenio Tzululá S.A. San Andrés Villa Seca, Retalhuleu.

Esperanza Jasdi Yosim Escarlet Rodríguez Santos

Estudiante

Carné: 201342132

Ing. Agr. Héctor Posadas Ruíz

Docente Asesor

Mazatenango, Suchitepéquez, Noviembre de 2016



Universidad de San Carlos de Guatemala
Centro Universitario del Suroccidente

Dr. Carlos Guillermo Alvarado Cerezo

Rector

Dr. Carlos Enrique Camey Rodas

Secretario General

Miembros del Consejo Directivo del Centro Universitario del Suroccidente

MSc. Mirna Nineth Hernández Palma

Presidenta

Representantes de Profesores

MSc. José Norberto Thomas Villatoro

Secretario

Representante Graduado del CUNSUROC

Lic. Ángel Estuardo López Mejía

Representantes Estudiantiles

Lcda. Elisa Raquel Martínez González

Br. Irrael Eduardo Arriaza Jerez

COORDINACION ACADÉMICA

Coordinador Académico

MSc. Carlos Antonio Barrera Arenales

Coordinador Carrera Licenciatura en Administración de Empresas

MSc. Bernardino Alfonso Hernández Escobar

Coordinador Carrera de Licenciatura en Trabajo Social

Lic. Edin Anibal Ortiz Lara

Coordinador de las Carreras de Pedagogía

MSc. Nery Edgar Saquimux Canastuj

Coordinador Carrera Ingeniería en Alimentos

Dr. Marco Antonio del Cid Flores

Coordinador Carrera Ingeniería en Agronomía Tropical

MSc. Jorge Rubén Sosof Vásquez

Coordinador del Área

Lic. José Felipe Martínez Domínguez

Coordinadora Carrera Licenciatura en Ciencias Jurídicas y Sociales, Abogado y Notario

Lcda. Tania María Cabrera Ovalle

Coordinador Carrera Ingeniería en Gestión Ambiental Local

MSc. Celso González Morales

CARRERAS PLAN FIN DE SEMANA DEL CUNSUROC

Coordinadora de las carreras del Pedagogía

Lcda. Tania Elvira Marroquín Vásquez

Coordinadora Carrera Periodista Profesional y Licenciatura en Ciencias de la Comunicación

MSc. Paola Marisol Rabanales

Mazatenango, 11 de noviembre de 2016.

Señores:

Comisión de Práctica Profesional Supervisada
Centro Universitario de Sur Occidente
Mazatenango, Suchitepéquez

Respetables señores:

De conformidad con lo que establece el reglamento de Práctica Profesional Supervisada que rige a los centros regionales de la Universidad de San Carlos de Guatemala, como requisito previo a optar al título de "TÉCNICO EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA", someto a consideración de ustedes el informe Final de Práctica Profesional Supervisada titulado **"Informe final de los servicios realizados en el Laboratorio de Control de Calidad de Plagas, del Departamento de Agronomía, Ingenio Tzulá S.A. San Andrés Villa Seca, Retalhuleu."**

Esperando que el presente trabajo merezca su aprobación, sin otro particular me suscribo.



Esperanza Jasji Yosim Escarlet Rodríguez Santos
Carné 201342132

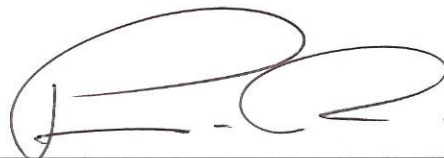
Mazatenango, 11 de noviembre de 2016.

Señores:
Comisión de Práctica Profesional Supervisada
Centro Universitario de Sur Occidente
Mazatenango, Suchitepéquez

Respetables señores:

Atentamente me dirijo a ustedes para informar que como asesor de la Práctica Profesional Supervisada del estudiante ESPERANZA JASDI YOSIM ESCARLET RODRIGUEZ SANTOS, con número de carné 201342132, de la carrera de TÉCNICO EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA, he finalizado la revisión del informe final escrito correspondiente a dicha práctica, el cual considero reúne los requisitos indispensables para su aprobación.

Sin otro particular, me permito suscribirme de ustedes atentamente,



Ing. Agr. Héctor Posadas Ruiz
Supervisor - Asesor

AGRADECIMIENTO

A:

Carrera de Agronomía Tropical del Centro Universitario del Suroccidente.

Mi familia por instarme a seguir adelante y apoyarme en mis estudios.

Ingenio Tululá S.A. por permitirme realizar mi Práctica Profesional Supervisada en sus instalaciones.

Ingeniero Alejandro Velásquez por su colaboración en mi Práctica Profesional Supervisada.

Ingeniero Héctor Posadas por guiarme en la corrección de este documento y realización de mi Práctica Profesional Supervisada.

Ingeniero Rubén Sosof por apoyarme y aconsejarme en la realización de este documento.

Ingeniero Juan Luis Gordillo coordinador de Práctica Profesional Supervisada 2016 por guiarme en mi documento en el tiempo que fue mi asesor.

Ingeniero José Manuel Márquez encargado del Manejo Integrado de Plagas en CENGICAÑA y personal del área por enseñarme y guiarme en la realización de mis servicios.

Muy agradecida con todas las personas honestas, respetables y sin ningún interés personal que me apoyaron en la realización de mis servicios (don Boris, doña Mari, Cruz, Mario, don Selvin, don Ramón, don Luis, señor Karla, mayordomos, jornaleros y caporales que me apoyaron).

Mis compañeros de estudios Ronaldo Medina y Balbino Yotz por proporcionarme materiales y productos para la realización de mis servicios.

INDICE

Contenido	Página
RESUMEN.....	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
General.....	2
Específicos	2
III. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA UNIDAD DE PRÁCTICA	3
1. Antecedentes históricos de la unidad productiva	3
2. Información general de la unidad productiva	3
2.1 Nombre de la unidad	3
2.2 Localización.....	3
2.3 Vías de acceso	4
2.4 Zonas de vida y clima.....	4
2.5 Hidrología	4
2.6 Flora y fauna	5
2.7 Ubicación geográfica	8
2.8 Tipo de institución.....	8
2.9 Objetivos de la institución	9
2.10 Servicios que presta	9
2.11 Horario de funcionamiento	10
2.12 Planificación a corto, mediano y largo plazo	10
2.13 Evaluación de actividades	11
IV. INFORME DE LOS SERVICIOS PRESTADOS.....	12
1. Producir nematodos entomopatógenos para controlar plagas de la raíz.	12
1.1 El problema	12
1.2 Revisión bibliográfica.....	13
1.3 Objetivo	21
1.4 Metas.....	21
1.5 Materiales y métodos	22
1.6 Presentación y discusión de resultados	24

2	Evaluación de porcentaje de mortalidad con 5 tipos de tratamientos químicos para el control de gallina ciega (<i>Phyllophaga spp</i>) bajo condiciones controladas, en bandejas.....	26
2.1	El problema	26
2.2	Revisión bibliográfica.....	27
2.3	Objetivo	33
2.4	Meta	34
2.5	Materiales y métodos	34
2.6	Presentación y discusión de resultados	36
3.	Evaluación del nivel de parasitismo con 3 tratamientos biológicos para el control de gallina ciega (<i>Phyllophaga spp</i>) bajo condiciones de laboratorio.	43
3.1	El problema	43
3.2	Revisión bibliográfica	44
3.3	Objetivo	49
3.4	Meta	49
3.5	Materiales y métodos	49
3.6	Presentación y discusión de resultados	53
V.	CONCLUSIONES.....	55
VI.	RECOMENDACIONES	56
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
VIII.	ANEXOS	62

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1: Fauna presente en el ingenio Tululá S.A.....	5
2: Plagas presentes en el cultivo de caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum L</i>). 6	
3: Fauna presente en el ingenio Tululá S.A.....	6
4: Malezas presentes en el cultivo de caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum L</i>).....	8
5: Horario laboral del personal de laboratorio.....	10
6: Productos y dosificación para cada bandeja.	38
7: Sorteo de los 6 tratamientos.....	39
8: Ficha de toma de datos, primera lectura.	40
9: Ficha de toma de datos, segunda lectura.....	41
10: Cantidad de larvas en las dos lecturas.	41
11: Ficha de toma de datos, primera lectura.	53
12: Ficha de toma de datos, segunda lectura.....	54

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1: Ciclo biológico de nematodo entomopatígeno.	15
2: Larvas de Galleria mellonolla. Infectada por NEP del género Steinernema.....	16
3: Ciclo biológico de la gallina ciega.	29
4: Gráfica de porcentaje de mortalidad de los 5 tratamientos.	42
5: Gráfica de total porcentaje de mortalidad de los 5 tratamientos.	42
6: Ciclo de desarrollo de un hongo entomopatígeno.....	47
7: Solución madre	62
8: Cámara potter	62
9: Mezcla de nematodos en la estufa agitadora.....	62
10: Conteo de nematodos con la cámara potter en el microscopio.....	62
11: Colocación del maíz en las bandejas (arriba), maíz en remojo (abajo).....	63
12: Materiales utilizados para la germinación de maíz y esterilización del suelo.	63
13: Proceso de crecimiento de maíz.....	64
14: Agua hirviendo para esterilizar el suelo.	65
15: Esterilización del suelo.....	65
16: Colocación del maíz en el suelo ya esterilizado.....	65
17: Larvas de gallina ciega para el experimento	65
18: Colocación de larvas en las bandejas.	66
19: Observación de larvas alimentándose durante ocho días.....	66
20: Productos químicos a utilizar	67
21: Medición de productos granulados en balanza analítica.....	68
22: Aplicación de productos granulados	68
23: Medición de productos líquidos con gotero	69
24: Aplicación de productos líquidos.....	69
25: Presentación de ensayo con identificación de tratamientos.....	70
26: Larvas muertas de los 5 tratamientos	70
27: 1ra., lectura de resultados.....	70
28: 2da., lectura de resultados.....	71

29: Larvas muertas de los 5 tratamientos.	71
30: Mezcla de producto biológico en estufa agitadora	72
31: Productos biológicos diluidos en agua. Metarhizium (izquierda), Paecilomyces (centro) y Nematodo Heterorhabditis (derecha).	72
32: Aplicación de tratamientos biológicos a cada cajita larvaria con la pipeta.	73
33: Presentación de ensayo con identificación de tratamientos.....	73
34: 1ra. Lectura de resultados.	74
35: larva muerta a causa de parasitoide	74
36: larvas muertas por ácaros y parasitoide colocadas en cámara húmeda.....	74
37: 2da. Lectura de resultados. Larva muerta por ácaros (izquierda), larva muerta por parasitoide (derecha).	75

RESUMEN

El documento presentado a continuación constituye el informe final de los servicios realizados de la Práctica Profesional Supervisada (PPS) llevados a cabo en el laboratorio de control de calidad de plagas, perteneciente al Ingenio Tzulá S. A. El cual contiene las actividades realizadas durante los meses de agosto a octubre del 2016.

Las funciones del laboratorio iniciaron en el año 2012, en donde se llevan a cabo actividades que principalmente se enfocan en la evaluación, monitoreo y proyecciones de las plagas existentes de los cañaverales de las fincas cultivadas del Ingenio Tzulá.

En uno de los servicios realizados se adaptó la metodología utilizada por CENGICAÑA (Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar) para la producción de nematodos entomopatógenos quienes parasitan a plagas de la raíz del cultivo de caña de azúcar (*Sacchaum officinarum L.*). Se obtuvo como resultado 20 millones de nematodos producidos. Esta práctica no se había llevado a cabo en el laboratorio del Ingenio, por lo cual se contó con la colaboración de CENGICAÑA para trasladar la metodología hacia el laboratorio de la unidad de práctica.

También se llevó a cabo un ensayo en donde se evaluaron cinco productos químicos para el control de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) pues en el Ingenio se ha observado la infestación de esta en las fincas del mismo. El motivo del ensayo es conocer cuál o cuáles de los productos tienen mayor control para la plaga y así considerarlo a nivel de campo. Entre los tratamientos evaluados se observó que tres de ellos tuvieron entre 70 y 80 por ciento de mortalidad en larvas de gallina ciega a los seis días de aplicación de los insecticidas.

Otro de los servicios realizados fue la evaluación de tres tratamientos biológicos a nivel de laboratorio para conocer la eficacia de estos en el control de plagas masticadoras que afectan el cultivo de caña de azúcar, esto para observar si tienen un resultado satisfactorio y así utilizarlos como control biológico, y con ello reducir la utilización de productos químicos. Como resultados de la evaluación estos fueron muy bajos en el nivel de parasitismo y mortalidad de los hospederos (gallina ciega) en un período de 15 días de observación.

I. INTRODUCCIÓN

El informe final del Práctica Profesional Supervisada (PPS) contiene el desarrollo de las actividades que se realizaron durante los meses de Agosto, Septiembre y Octubre en el Laboratorio de control de calidad de plagas, del departamento de Agronomía perteneciente al Ingenio Tululá S.A. ubicado en el kilómetro 4.5 de la carretera a La Máquina, San Andrés Villa Seca, Retalhuleu. El ingenio Tululá aparte de producir caña de azúcar también se dedica a la producción de rones para la degustación, en donde se convierte en una empresa de carácter agroindustrial que produce su materia prima y la transforma.

El presente documento contiene la realización de los servicios que se planificaron con anterioridad en base al diagnóstico realizado como primera fase de la práctica. De acuerdo a los problemas encontrados, se realizaron servicios institucionales siendo los siguientes:

- Realización de la metodología utilizada por CENGICAÑA para la producción de nematodos entomopatógenos para controlar plagas de la raíz.
- Evaluación de porcentaje de mortalidad con 5 tipos de tratamientos químicos para el control de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) bajo condiciones controladas, en bandejas.
- Evaluación del nivel de parasitismo con 3 tratamientos biológicos para el control de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) bajo condiciones de laboratorio.

En cada uno de los servicios realizados se indica el problema que motivo la ejecución del mismo, como también los objetivos y metas que se deseaban alcanzar, las metodologías utilizadas, los resultados obtenidos en cada actividad, presentándose al final las conclusiones y recomendaciones basadas en los resultados obtenidos de cada servicio ejecutado.

II. OBJETIVOS

General

- Contribuir en el desarrollo de las actividades propuestas para lograr la ejecución de cada una de ellas enfocadas a la solución o disminución de los problemas con plagas de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) encontradas en la unidad de práctica, el laboratorio de control de calidad de plagas perteneciente al ingenio Tululá S.A., San Andrés Villa Seca, Retalhuleu.

Específicos

- Producir nematodos entomopatógenos para controlar plagas de la raíz.
- Evaluar el porcentaje de mortalidad con 5 tipos de tratamientos químicos para el control de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) bajo condiciones controladas, en bandejas.
- Evaluar el nivel de parasitismo con 3 tratamientos biológicos para el control de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) bajo condiciones de laboratorio.

III. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA UNIDAD DE PRÁCTICA

1. Antecedentes históricos de la unidad productiva

En el año de 2010 el Ingenio Tululá contrató asesoría para el control de plagas que se adjudicó al Dr. Francisco Badilla y fue quien recomendó que había necesidad de crear un laboratorio para apoyar las labores de campo, esto lo propuso a la gerencia y Junta Directiva del Ingenio (Castro,2014).

En el 2011 la Ingeniera agrónoma Ana Karen Figueroa dio sus inicios en este trabajo como epesista y apoyo a la investigación que ellos hacían junto con el jefe de agronomía el Ing. Carlos Ramírez. Se realizó el diseño y la construcción del laboratorio.

Este empezó a funcionar en Marzo de 2012 y empezaron sus labores con pocos recursos especialmente en material y equipo. Actualmente en el laboratorio solo laboran 2 personas de tiempo completo (Castro, 2014).

2. Información general de la unidad productiva

2.1 Nombre de la unidad

Laboratorio de Control de Calidad de Plagas de la Caña de Azúcar, Ingenio Tululá S.A.

2.2 Localización

El laboratorio es un anexo al Ingenio Tululá S.A. que se encuentra en el municipio de San Andrés Villa Seca, en el departamento de Retalhuleu.

2.3 Vías de acceso

De la ciudad de Guatemala al municipio de Cuyotenango Suchitepéquez existen 168 Km. Transitados por la carretera interamericana CA-2, de Cuyotenango, para llegar a la fábrica se recorren 5 Km; de los cuales 4.5 Km. son recorridos por la carretera que comunica a Cuyotenango rumbo al municipio de San José La Máquina y 0.5 Km. hacia las oficinas del ingenio (Montufar, 2010).

2.4 Zonas de vida y clima

El Ingenio Tululá queda comprendido entre el Bosque muy húmedo Subtropical (cálido) Bmh-S(c) esto indica que la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es un cultivo propiamente de regiones tropicales por lo tanto la zona de vida es adecuada para el cultivo de caña de azúcar. Se presentan las principales variables climáticas que caracterizan la zona según (Holdridge, L.R.1982).

El Ingenio Tululá cuenta con una estación meteorológica la cual determina la precipitación y la temperatura que presentan durante el año. En general se registran temperaturas de 25.5 °C a 28 °C y una precipitación entre 2,000 a 2,500 mm/anuales (Montufar, 2010).

2.5 Hidrología

Por el Ingenio Tululá atraviesan los ríos Sis, Icán y Samalá como fuentes hídricas principales de donde obtiene el agua que es utilizada en riego y otros procesos industriales.

En el laboratorio se utiliza agua de las fuentes subterráneas del pozo para la limpieza del equipo de trabajo, también agua purificada para el consumo humano, preparación de medios de cultivos y soluciones.

2.6 Flora y fauna

➤ Fauna

La fauna con la cuenta el ingenio Tululá S.A. es:

FAUNA
Onza (<i>Puma yagouaroundi</i>)
Coyote (<i>Canis latrans</i>)
Patos (<i>Anas platyrhynchos</i>)
Pijije (<i>Dendrocygna autumnalis</i>)
Martin pescador (<i>Alcedo atthis</i>)
Saraguate (<i>Alouatta pigra</i>)
Venado (<i>Odocoileus virginianus</i>)
Culebra (<i>Serpentes</i>)
Sapo (<i>Anura</i>)
Loro (<i>Psittacoidea</i>)
Perico (<i>Melopsittacus undulates</i>)
Zanate (<i>Quiscalus</i>)
Pijuy (<i>Crotophaga sulcirostris</i>)
Cenzontle (<i>Mimus polyglottos</i>)
Chocoyo (<i>Aratinga strenua</i>)
Tortolito (<i>Columbina talpacoti</i>)
Gorrión (<i>Passer domesticus</i>)
Carpintero (<i>Colaptes melanochloros</i>)
Zopilote (<i>Coragyps atratus</i>)
Gavilán (<i>Accipiter nisus</i>)
Querrequerre (<i>Cyanocorax yncas</i>)
Garza (<i>Ardeidae</i>)

Cuadro 1: Fauna presente en el ingenio Tululá S.A.

Fuente: Autor 2016

Las plagas que se encuentran en fincas del Ingenio Tululá S.A. son:

Cuadro 2: Plagas presentes en el cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L)

PLAGAS
Barrenador del tallo (<i>Diatraea spp</i>)
Chinche salivosa (<i>Aeneolamia spp</i>)
Rata cañera (<i>Sigmodon hispidus</i>)
Saltón coludo (<i>Saccharosydne saccharivora</i>)
Gallina Ciega (<i>Phyllophaga spp</i>)
Mayate negro (<i>Euetheola bidentata</i>)

Fuente: Castro 2014

➤ Flora

Cuadro 3: Fauna presente en el ingenio Tululá S.A.

FLORA
Eucalipto (<i>Eucalyptus</i>)
Espinillo (<i>Parkinsonia aculeata</i> L.)
Llora sangre (<i>Bocconia arborea</i>)
Palo blanco (<i>Calycophyllum multiflorum</i>)
Maderón (<i>Gliricidia sepium</i>)
Pata de mula (<i>Anadara tuberculosa</i>)
Hormigo (<i>Platymiscium dimorphandrum</i>)
Palo zopote (<i>Casimiroa edulis</i>)
Corcho (<i>Quercus suber</i>)
Palo de chile (<i>Porlieria chilensis</i>)
Conacaste (<i>Enterolobium cyclocarpum</i>)
Cedro (<i>Cedrela adórate</i>)

Tempisque (<i>Sideroxylon capiri</i>)
Palo Amarillo (<i>Phyllostylon rhamnoides</i>)
Corozo (<i>Acrocomia aculeate</i>)
Mata palo (<i>Ficus aurea</i>)
Cortez (<i>Tabebuia ochracea</i>)
Zapotillo (<i>Garrya elliptica</i>)
Melina (<i>Gmelina arborea Roxb</i>)
Caulote (<i>Guazuma ulmifolia</i>)
Ceiba (<i>Ceiba pentandra</i>)
Palo jiote (<i>Bursera simaruba</i>)
Laurel (<i>Laurus nobilis</i>)
Huevo de gato (<i>Nepeta cataria</i>)
Palo de ramón (<i>Brosimum alicastrum</i>)
Palo de canela (<i>Cinnamomum verum</i>)
Palo de guachipilin (<i>Diphysa Americana</i>)
Capulin (<i>Prunus salicifolia</i>)

Fuente: Autor 2016

Las malezas más frecuentes que se observan en el cultivo de caña de azúcar en las fincas del Ingenio Tumulá S.A. son:

Cuadro 4: Malezas presentes en el cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L)

MALEZAS
Quinamul (<i>Ipomoea spp</i>)
Coyolillo (<i>Cyperus rotundus</i>)
Caminadora (<i>Rottboelia cochinchinensis</i>)
Falsacaminadora (<i>Anthephora hermaphrodita</i>)
Mozote (<i>Cenchrus echinatus</i>)
Arrocillo (<i>Echinochoa colonum</i>)
Bermuda (<i>Cynodon dactilión</i>)

Fuente: Ávila 2013

2.7 Ubicación geográfica

El Ingenio Tumulá se ubica a 14° 33' 25" de Latitud Norte y 90° 49' 35" Longitud Oeste con orientación al meridiano de Greenwich (MAGA, 2004).

Colindancias: Al norte con el Ingenio El pilar, al sur con caserío El Salto y Buenos Aires, al este con el municipio de Cuyotenango, al oeste con Aldea Pajales (Castro, 2014).

2.8 Tipo de institución

El laboratorio de Control de Calidad de Plagas, del cultivo de caña de azúcar, es una institución privada perteneciente al departamento de Agronomía, del Ingenio Tumulá S.A.

2.9 Objetivos de la institución

Los objetivos que procura alcanzar el laboratorio de control de calidad de plagas son:

- a. Conseguir un control efectivo de plagas a través de las proyecciones que realizan en base a los estudios biológicos de población, esto realizado mediante muestreos en el campo donde se encuentra establecido el cultivo de caña de azúcar y posteriormente analizados en el laboratorio para realizar las proyecciones.
- b. Realizar ensayos para obtener información que pueda ayudar en un control alternativo o verificar el control que se realiza actualmente con las plagas en campo.
- c. Buscar controles alternativos para las diferentes plagas que se presentan en el campo para el cultivo de caña de azúcar del Ingenio Tululá.

2.10 Servicios que presta

- a. Muestreo y proyecciones de población de larvas de barrenador del tallo.
- b. Muestreo y proyecciones de población de ninfas de chinche salivosa.
- c. Muestreo de huevos diapáusicos fértiles de chinche salivosa, durante tiempo de Zafra, para determinar la proyección de población.
- d. Ensayos con rodenticidas para conocer la efectividad y sintomatología que presentan los roedores en estudio.
- e. Ensayos químicos en larvas de barrenador de tallo.
- f. Muestreo y proyecciones de población en estadios de saltón coludo.
- g. Ensayos químicos ocasionales para verificar el control de los insecticidas en la plaga de gallina ciega.

2.11 Horario de funcionamiento

Las labores del laboratorio de control de calidad de plagas se realizan en el siguiente horario:

Cuadro 5: Horario laboral del personal de laboratorio

PERSONAL	HORARIO
Encargada	7:00 a 16:00 hrs.
Auxiliar	7:00 a 16:00 hrs.
Muestreadores de campo	6:00 a 14:00 hrs.
Analistas (Tiempo de zafra, 2 turnos)	Turno 1: 6:00 a 15:00 hrs. Turno 2: 12:00 a 18:00 hrs.

Fuente: Autor 2016

2.12 Planificación a corto, mediano y largo plazo

En el laboratorio de control de calidad de plagas se planifica según las diferentes plagas, una de las principales actividades que se realiza es el muestreo de huevos diapáusicos de chinche salivosa (*Aeneolamia spp*) que se hace en el periodo de noviembre a abril de cada año. También con la plaga de chinche salivosa se realizan proyecciones de población en el periodo de mayo a septiembre.

Se realizan proyecciones de población de barrenador de tallo (*Diatraea spp*) mediante un muestreo de pre-cosecha. También se hacen proyecciones de saltón coludo (*Saccharosydne saccharivora*) realizando el conteo de estos en sus diferentes estadios. Se trabaja en la crianza de ratas cañeras (*Sigmodon hispidus*) para ensayos químicos y determinar la reacción de los mismos. También se hacen actividades con las larvas de barrenador que son los ensayos de sintomatología y su crianza para los mismos ensayos.

En la unidad de práctica se trabaja con las plagas arriba mencionadas que afectan al cultivo de caña de azúcar, pero a pesar de ello solo se tienen planificaciones a corto y mediano plazo, esto ocurre porque es un área que no tiene mucho tiempo de haberse establecido y aun no se cuentan con proyectos planificados a largo plazo. Otra actividad que se ejecuta es el monitoreo de plagas en el cultivo, así como los ensayos que están propuestos a realizarse.

2.13 Evaluación de actividades

Las distintas actividades que se evalúan en laboratorio se logran a través de la efectividad que se obtiene en el control de las plagas a nivel de campo durante pre-cosecha y cosecha, con base a las proyecciones realizada.

IV. INFORME DE LOS SERVICIOS PRESTADOS

1. Producir nematodos entomopatógenos para controlar plagas de la raíz.

1.1 El problema

En el Ingenio Tululá, como en cualquier institución o área de producción de cultivos, se necesita controlar las plagas que afecten a una plantación, por ello se buscan nuevas y/o mejores alternativas para la eliminación o control de las mismas. Los nematodos a producir presentan un amplio rango de hospedadores, la mayor parte de ellos en algún momento de su ciclo de vida permanecen en el suelo, pero también son susceptibles algunos insectos que no habitan el suelo en ningún momento de su ciclo de vida.

La mayoría de insectos susceptibles pertenecen a los órdenes Lepidóptera y Coleóptera. También son susceptibles algunas especies de los órdenes, Tisanóptera, Díptera, Homóptera, Isóptera, Orthóptera. Además se ha comprobado un importante efecto nematostático contra nematodos fitopatógenos de los tipos *Meloidogyne* spp., *Tylenchorhynchus* spp., *Globodera* spp., y Criconematidos.

Los NEP (Nematodos Entomopatógenos) son compatibles con gran cantidad de productos químicos, por ello son una buena herramienta de control tanto para programas de manejo integrado, como programas de lucha biológica.

En el laboratorio de control de calidad de plagas no se cuenta con una metodología para la producción de nematodos entomopatógenos, la cual sería de mucha ayuda a la hora de querer contar con estos para parasitar larvas de plagas presentes en el cultivo de caña de azúcar y así utilizarlos como control biológico.

1.2 Revisión bibliográfica

Nematodos entomopatógenos

Son organismos microscópicos parásitos obligados de insectos, cilíndricos no segmentados, con sistema excretorio, nervioso, digestivo, reproductivo y muscular pero carente de sistema circulatorio y respiratorio, el cuerpo es más o menos transparente, cubierto por una cutícula incolora, su diámetro pequeño hace que no sean observados a simple vista, llevan quimiorreceptores, es decir buscan activamente a sus hospederos y matarlos rápidamente; los adultos tienen una longitud de 1 a 8 mm y los juveniles infectivos de 440 a 1500 um, pertenecen a dos familias incluidas en el orden Rhabditida: Steinernematidae y Heterorhabditidae; presentan una asociación mutualista con una bacteria de la familia Enterobacteriaceae: Sternernema, está asociado con Xenorhabdus, y Heterorhabditis, con Photorhabdus, confiere características del complejo nematodo-bacteria, son letales a un amplio rango de insectos de importancia económica (21)

a. Ventajas

Llevan una bacteria que regurgitan en la cavidad del cuerpo del insecto. Presentan un rango amplio de hospederos. Se pueden cultivar a gran escala en medios artificiales líquidos o sólidos matan a los insectos a las 48 horas de penetrar en ellos, sobreviven por periodos largos en condiciones de almacenaje. Se aplican con medios convencionales persisten en medios naturales. Los nematodos entomopatógenos ofrecen numerosas ventajas como agentes de biocontrol. Son muy efectivos y superan frecuentemente los resultados obtenidos mediante agentes químicos. A diferencia de los químicos, que no se desplazan por el agua y degeneran en pocos días, los nematodos entomopatógenos son muy móviles y persistentes. Además se multiplican en el insecto hospedador amplificando sus efectos. Otra ventaja de su utilización es la seguridad, tanto en su uso como en su producción, ya que no causan efectos perjudiciales sobre otras poblaciones de insectos ni sobre

plantas o mamíferos y son fácilmente aplicables con pulverizadores, regaderas o inyectores (21)

b. Taxonomía

Phylum: Nematoda

Clase: Secernentea

Orden: Rhabditida

Suborden: Rhabditidina

Superfamilia: Rhabditoidea

Familia: SteinernematidaeHeterorhabditidae

c. Ciclo de vida

Consta de: estado de huevo, cuatro estados juveniles y un estado adulto (macho o hembra); dicho ciclo (de juvenil infectivo a juvenil infectivo) puede proceder por dos rutas; si los nutrientes son suficientes y la población no presenta un hacinamiento; los juveniles infecciosos se desarrollan hasta llegar a machos y hembras adultas de la primera generación, el estado infectivo juvenil es la única etapa infectiva y de vida libre de su ciclo. En esta fase puede sobrevivir varios meses en el suelo sin alimentarse, buscando activamente hospederos (8)

Los juveniles de 3er estadio (“infectivos” o “dauer”) no se alimentan y dependen de sus reservas internas como fuente de energía, son los únicos que pueden sobrevivir fuera del insecto hospedante, debido a su gruesa cutícula, tienen las aberturas cerradas (boca y ano) y se localizan generalmente en el suelo (8)

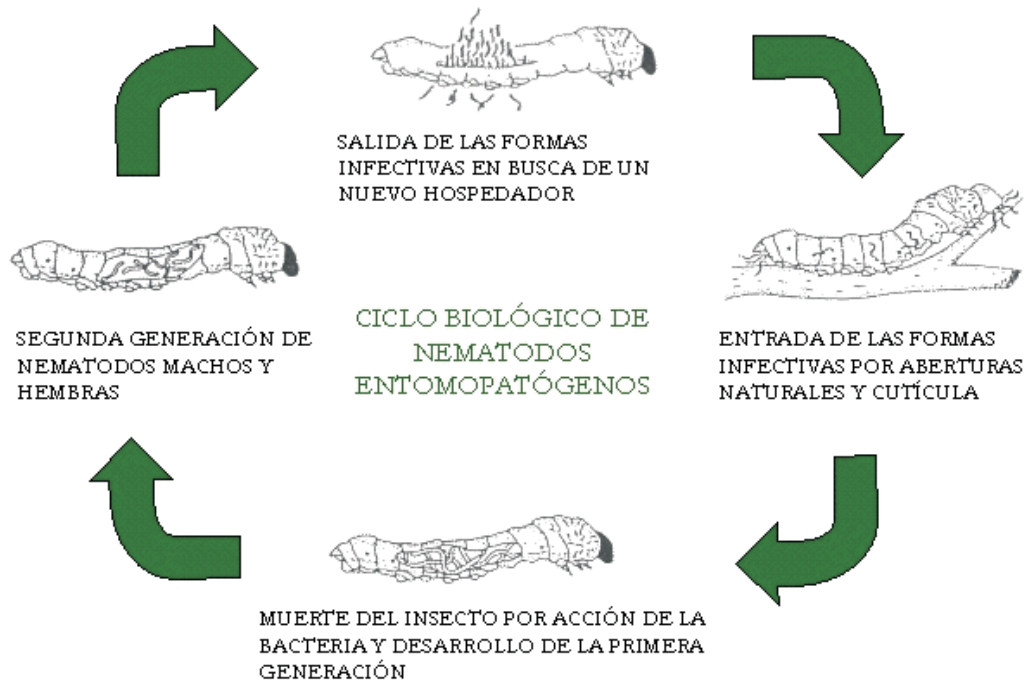


Figura 1: Ciclo biológico de nematodo entomopatógeno.

Fuente: Picoaga, A., Abellieiga A & Mansilla.

d. Forma de acción

Penetración del infecto juvenil: Los juveniles infectivos localizan al insecto hospedante y lo invaden por los orificios naturales, es decir boca, ano y espiráculos, o a través de las partes suaves del integumento, en algunos casos directamente por la cutícula, hasta llegar a la hemolinfa del insecto, los juveniles infectivos Heterorhabditidos debido a que poseen un diente dorsal pueden raspar la cutícula y entrar directamente al hemocele de ciertos insectos.

Infección bacteriana: Una vez dentro del insecto la penetración al hemocele se logra mediante la liberación de enzimas proteolíticas, en la hemolinfa regurgita, donde libera la bacteria simbiote asociada que puede ser *Xenorhabdus spp* para *Stienernema spp* (21)

Photorhabdus luminescens para *Heterorhabditis* spp., que portan en el intestino y esta actúa, se multiplica rápidamente invade la inmunología del insecto, provee nutrientes para ella y el nematodo mediante la secreción de variedades de enzimas extracelulares que degradan los tejidos del hospedador.

De esta forma, los nematodos actúan como vectores, a través de los cuales la bacteria se transfiere de un insecto a otro (21)

Metabolitos bacterianos: Produce antibióticos y bacteriocinas que impiden la entrada de organismos oportunistas en el cadáver del insecto, entre los metabolitos producidos se encuentran compuestos tóxicos para algunos nematodos fitopatógenos (21)



Figura 2: Larvas de *Galleria mellonella*. Infectada por NEP del género *Steinernema* (izquierda) e infectada por NEP del género *Heterorhabditis* (derecha).

Fuente: Picoaga, A., Abellieiga A & Mansilla.

Muerte del insecto: Se da por la septicemia (infección generalizada) en un periodo de 24 a 48 horas; las bacterias a la vez se multiplican, producen condiciones favorables para la alimentación de los nematodos, los juveniles infectivos abandonan el cadáver cuando se agotan los recursos, se dispersan

y van en busca de nuevos insectos, esto ocurre entre los seis y once días en los *Sterinermantidos* y doce a catorce días en los *Heterorhabditidos* (21)

e. Bacterias simbióticas

Existe una relación mutualista entre el entomopatògeno y la bacteria, la bacteria es incapaz de sobrevivir en el suelo por lo tanto requiere del juvenil infectivo para su protección donde su casa es el intestino, al carecer de habilidad de invasión es dependiente del nematodo, para transportarse dentro del hemocele, asimismo recibe la protección del nematodo ya que este inhibe las defensas antibacterianas del hospedero.

Por su parte un nematodo recibe los beneficios de la bacteria, debido a que esta mata al hospedero rápidamente y crea un ambiente favorable para el crecimiento y reproducción del nematodo al inhibir el crecimiento de microorganismos competidores a través de la producción de antibióticos, la bacteria transforma los tejidos del hospedero en una fuente de comida para el nematodo y asimismo la bacteria sirve como fuente de alimento para el nematodo, sin la presencia de la bacteria simbiótica en el cadáver del insecto, los nematodos son incapaces de reproducirse.

Las especies de *Xenorhabdus* son gran negativas, anaerobias facultativas en forma de varilla, clasificadas dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, actualmente se han reconocido cinco especies de *Xenorhabdus* donde a toda especie de *Steinernema* lleva una sola especie de *Xenorhabdus*; aunque puede encontrarse con una o más especies de nematodos. La bacteria *Photorhabdus luminescens* se encuentra asociada simbióticamente con todas las especies de *Heterorhabditis* (21)

f. Rango de hospederos

Presentan un amplio rango de hospederos, la mayoría de los insectos susceptibles pertenecen a las órdenes: Lepidóptera: *Chilo* spp, *Spodoptera littoralis*, *Pieris rapae*, *Agrotis segetum*, *Cossus*, *Zeuzerapyrina*. Coleóptera: *Melolontha* spp., *Otiorynchus* spp., *Vesperus xatarti*, *Cosmopolites sordidus*, *Capnodis tenebrionis*. También son susceptibles a Tisanòptera: *Frankliniella occidentalis*, Díptera: *Ceratitis capitata*; Heteróptera: *Dysdercus peruvianus*; Isóptera: *Reticulotermes* spp.; Ortóptera: *Lacustra migratoria*. Además se ha comprobado un importante efecto nematostático contra nematodos fitopatògenos de los tipos *Meloidogyne* spp., *Tylenchorhynchus* spp., *Globodera* spp, y Criconematidos (21)

g. Dispersión de los juveniles infectivos

Se produce tanto verticalmente como horizontalmente, ambos pasivamente (lluvia, viento, tierra; por los humanos o insectos) o activamente por los nematodos cazadores que es el principal medio de búsqueda de hospederos, su potencial para dispersarse a grandes distancias está limitado a cuantos metros por año como máximo; la dispersión a largas distancias puede ocurrir en un número pequeño y requieren ser transportados por los insectos hospederos (21)

h. Factores abióticos

Radiación solar: La luz es uno de los factores más nocivos para la sobrevivencia, sin embargo no es un factor determinante para el control de insectos, por lo que se puede omitir, siempre y cuando se trabaje dentro del sustrato suelo actuando sobre una etapa específica del insecto.

Los heterorhabditidos parecen ser los más vulnerables a los rayos ultravioleta, los juveniles infectivos de *H. bacteriphora* se inactivan cuando son expuestos a ondas ultravioletas con una radiación media de 302 nm nivel de

radicación que no afecta a *S. carpocapsae*; así *H. bacteriophora* muestra un retraso en la emergencia de la progenie a 1.5 minutos de exposición, un decremento en la capacidad de reproducción a 2 minutos y menor patogenicidad a 4 minutos, mientras que *S. carpocapsae* no muestra efectos negativos a exposiciones de 6 minutos; la inactivación completa de *H. bacteriophora* se presenta después de 4 minutos de irradiación, para *S. carpocapsae* es de 10 minutos (21)

Temperatura: Tiene efectos biológicos en el desarrollo, la respiración, la supervivencia, dispersión, búsqueda de hospederos, infectividad y patogenicidad y reproducción.

La temperatura óptima para la actividad de *Heterorhabditis* es de 20 a 25° C que es similar a la óptima para la actividad de juveniles infectivos de otros nematodos parásitos, temperaturas arriba de 30° C tienden a inhibir el desarrollo de nematodos dentro del hospedero, arriba de 35° C por un periodo largo de tiempo es de trimental a los juveniles infectivos, generalmente estas temperaturas no son comunes en campo, a menos que el cadáver del hospedero se encuentre cerca a la superficie del suelo; el hábitat original de cepas y especies de nematodos determina la capacidad a tolerar dichas temperaturas (21)

i. Humedad

Es fundamental para mantener el estado de hidratación, movimiento e infección del nematodo también la supervivencia, los *Steinernatidos* pueden sobrevivir a relativa baja humedad del suelo, en suelos normales, su capacidad de búsqueda del hospedero e infectividad puede reducirse; dentro de los *Steinernatidos* *S. carpocapsae* a 25 y 40 % Hr fue efectivo en *Spodopteralitura*, así como a 10, 15 y 50 % de Hr los juveniles infectivos a 25 y 40 % Hr (21)

j. Textura del suelo

Afecta la movilidad, persistencia e infectividad, siendo las texturas arenosa y franca las más favorables, en suelos arcillosos, el pequeño diámetro de sus poros y la reducción de la aireación constituyen los aspectos de mayor influencia en la supervivencia, también se reduce su infectividad.

Los contenidos de humedad y sales en el suelo, como la textura del mismo, juegan un papel importante en el establecimiento, desarrollo, dispersión y patogenicidad.

Un pH de 8 a 4 disminuye la supervivencia y patogenicidad, pH de 10 se declina la supervivencia de una manera drástica; la acidez del suelo también tiene un efecto importante.

Los niveles de oxígeno son principalmente determinados por los niveles de oxígeno del ambiente y el tamaño del cuerpo, debido a que los nematodos no poseen sistema respiratorio y circulatorio, la tolerancia a la falta de oxígeno varía drásticamente entre especies, el oxígeno puede llegar a ser un factor limitante en suelo con alto contenido de arcilla, materia orgánica o saturados de agua (21)

k. Factores bióticos

La supervivencia y eficacia de los Steinermatidos y Heterorhabditidos se ve limitada por la disponibilidad del hospedero y la abundancia de enemigos naturales; entre los enemigos naturales se encuentran microartropodos como colembolas y avaros que consumen con facilidad nematodos entomopatògenos, dependiendo de esta dieta un adecuado desarrollo y reproducción de estos nematòfagos.

Los hongos pueden atacar de manera fácil a los nematodos, no obstante que el tercer estado juvenil retiene la segunda cutícula del segundo instar, que actúa como una barrera contra la invasión de hongos, entre los

hongos nematòfagos esta Hirsutellarhossiliensis, Arthrobotrys spp. Y Monacrosporium spp que infectan o atrapan juveniles infectivos.

Cuando los nematodos se encuentran en desarrollo dentro del cadáver pueden ser atacados por distintos invertebrados carroñeros, que pueden afectar el reciclado de los nematodos (21)

I. Cría de nematodos entomopatógenos

La cría de nematodos entomopatógenos en laboratorio se realiza tanto a pequeña escala, sobre un insecto modelo, como a gran escala, en medios de cultivo sólidos y líquidos. Estos métodos están siendo utilizados con éxito por diferentes empresas en Europa, Asia y Norte-América, utilizando para la producción a gran escala fermentadores que pueden alcanzar volúmenes de 80.000 litros.

Los juveniles resistentes así obtenidos se pueden conservar a temperaturas entre 5 y 8°C, de forma activa, en esponjas o en líquidos, o parcialmente deshidratados en sólidos inertes, como arcilla o vermiculita.

Para su posterior aplicación en campo se diluyen en agua de riego y se aplican como si se tratase de un producto (21)

1.3 Objetivo

- ✓ Ejecutar la metodología utilizada por CENGICAÑA para la producción de nematodos entomopatógenos en medio de concentrado de perro.

1.4 Metas

- ✓ Lograr un adecuado desarrollo de la actividad con los materiales que cuenta el laboratorio.
- ✓ Obtener al menos 5 millones de producción de nematodos por bandeja.

1.5 Materiales y métodos

1.5.1 Recursos Humanos

- Una persona para la asistencia en desarrollo de la metodología.
- Estudiante PPS

1.5.2 Recursos Físicos

- 175g de concentrado de perro (marca RAMBOCAN sin colores) para preparar 10 bandejas. Se utilizará concentrado por ser el medio más económico.
- Bolsas de papel y plásticas de 10 lb.
- 2 litros de agua desmineralizada.
- Alcohol al 95%
- Tetraciclina
- Cloranfenicol
- Papel mayordomo o toalla
- Mechero
- Licuadora
- Hules
- Beaker 100ml
- Erlenmeyer 1000ml
- 10 bandejas de 52.25 pulgadas
- Jeringas 5ml
- Estufa agitadora
- Autoclave

1.5.3 Metodología

Procedimiento:

- Las bandejas deben ser limpiadas con papel mayordomo humedecidas con alcohol al 95%
- La licuadora se limpiará con papel mayordomo humedecidas con alcohol al 95%
- El agua a utilizar son 2L para 10 bandejas.
- El concentrado será triturado para que quede en forma de polvo.
- Se licuará el polvo del concentrado con los 2L de agua.

Esterilización:

- Todos los materiales deben ser esterilizados por 30 minutos en la autoclave.
- Las bandejas deben ser esterilizadas por 10 a 15 minutos en la autoclave.
- La cama de flujo laminar y toda la sala debe ser desinfectada con UV por 30 minutos.

Preparación de medio o sustrato:

- Licuar 175g de concentrado ya triturado en un litro de agua desmineralizada para 5 bandejas.
- Aplicar una cápsula de cloranfenicol al litro de agua.
- Esterilizarlo por 30 minutos en la autoclave.

Obtención de inóculo:

- El pie de cría debe estar libre de ácaros. Para ello se recomienda realizar una tamiza del pie de cría por lo menos 10 días antes de la producción.
- Se debe tratar de no abrir el beaker por completo para evitar la contaminación y solo succionar con la aguja de la jeringa de 5ml.
- Cada vez que se utiliza la jeringa desinfectarla con alcohol.

Inoculación:

- Aplicar a cada bandeja 100ml del medio y agitarlo dependiendo si hay que aplicar más agua si está muy grueso.
- Aplicar 5ml de la suspensión de nematodos a cada bandeja.
- Las bandejas aplicadas se colocan dentro de bolsas antes de sacarla del flujo laminar.
- Para asegurar que no ocurra contaminación, amarrar las bolsas con hule.

Incubación:

- Las bandejas deben ser colocadas en estanterías en una sala con una temperatura de 25 a 29°C e incubadas en oscuridad.
- Las bandejas pasaran de 7 a 10 días en la sala antes de su utilización en campo.

1.6 Presentación y discusión de resultados

Conteo de nematodos.

- Pasados los 10 días, se sacó de la solución madre una pulgada² y se agregó en un Becker con 200ml de agua en donde se agitó por 3 minutos en la estufa agitadora.
- Seguidamente se hizo el conteo de nematodos en el microscopio en 4x con un instrumento llamado Cámara Potter en el cuál caben 2ml de la solución de nematodos; estos mililitros se agregaron con una pizeta.
- En la observación se contaron cuantos nematodos había en cada cuadrado de la cámara potter.
- El aproximado de producción de nematodos que se logró fue de 7 millones por bandeja, siendo 70 millones de nematodos aproximadamente.

Ejemplo de una lectura para conocer la cantidad de nematodos por bandeja.

$144 \div 2 \times 200 \times 10 = 144,000$ nematodos por pulgada.

$144,000 \times 52.25 = 7,524,000$ nematodos por bandeja.

En donde:

144 = nematodos contados en la cámara potter a través del microscopio.

2 = cantidad de mililitros que contiene la cámara potter.

200 cantidad de agua para diluir la solución madre.

10 = dilución.

52.25 = área de la bandeja.

2 Evaluación de porcentaje de mortalidad con 5 tipos de tratamientos químicos para el control de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) bajo condiciones controladas, en bandejas.

2.1 El problema

Para que la explotación comercial del cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum L.*) sea rentable es necesaria la obtención de altos rendimientos para lo cual es indispensable conocer y manejar los diversos factores que actúan en forma adversa al cultivo. Dentro de estos existen factores bióticos y abióticos. Entre los factores bióticos se pueden mencionar las plagas insectiles (Rosales, 2001). Los insectos plaga del cultivo de la caña de azúcar, constituyen uno de los factores más importantes de la disminución de los rendimientos, ya que afecta el sistema radicular, el tallo y las hojas. Esto se debe a que en el cultivo ocurren gran cantidad de especies de insectos, otra razón y quizá la más importante, es que al cultivarse en áreas extensivas, se ha provocado un desbalance ecológico, favoreciendo así, la presencia de plagas que viven en forma natural principalmente en malezas (Badilla, 1994).

Las gallinas ciegas (*Phyllophaga spp*) causan daño al cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum L.*), debido a que las larvas para su desarrollo y crecimiento se alimentan de la raíz. El manejo integrado de plagas (MIP), busca mantener las poblaciones de la plaga a niveles que no causen daños económicos al cultivo, mediante el uso de tácticas de control como: prácticas culturales, control biológico, control químico. Actualmente en el cultivo de la caña de azúcar en el Ingenio Tululá se realizan prácticas de control químico.

Es importante evaluar el control de gallina ciega con otros tratamientos químicos, es por ello que el ensayo busca determinar que insecticida causa mayor nivel de mortalidad a nivel de laboratorio para que con ello sean considerados en la estrategia de control integrado de dicha plaga por medio de la realización de ensayos a nivel de campo. Por esto se optó por realizar un ensayo a nivel de laboratorio para tener un mejor control y en el cual se quiere conocer el porcentaje de eficacia de cada producto.

2.2 Revisión bibliográfica

Gallina Ciega (COLEOPTERA: SCARABAEIDAE)

a. Características y descripción

Las larvas de la familia Scarabaeidae (Coleóptera) se conocen como Gallina Ciega, se alimenta de las raíces de las plantas, especialmente de las gramíneas, y los adultos son los llamados escarabajos o ronrones de mayo.

King citado por Macz L.V. (1998) ha reportado para Guatemala los géneros de la subfamilia Melolonthinae, Anómala, Cyclocephala y Phyllophaga. Hábitos alimenticios: rizófagos (raíces) y saprófagos (materia orgánica en descomposición). Los adultos se alimentan de hojas, brotes tiernos, botones y néctar de las flores. Para los rizófagos estrictos, la materia orgánica puede actuar como un fago-estimulante y como un atrayente para alimentarse de las raíces de las plantas y causar daño.

El daño que causan las larvas de Gallina Ciega en las raíces, se manifiesta con mayor intensidad en los meses de agosto, septiembre y octubre, que es cuando la larva se encuentra en el tercer estadio (el más voraz), dura mucho tiempo y está adaptada a condiciones ambientales adversas.

b. Distribución Geográfica

Ha sido reportada en casi todos los países del continente americano sobre el cultivo de la caña de azúcar. Su distribución es amplia en los cañaverales de países que son productores de este cultivo.

c. Taxonomía

La Gallina Ciega, también conocida como joboto, chobote, oronto, chorontoco y en estado adulto como abeja de mayo, chucote, mayate y ronron; se encuentra clasificada taxonómicamente así:

Reino: Animal
Phyllum: Arthropoda
Clase: Insecta
Orden: Coleóptera
Familia: Scarabaeidae
Subfamilia: Melolonthinae
Género: Phyllophaga, Rubella, setigera y otras Especies.
Otros géneros: Anómala y Cyclocephalla.

d. Morfología de las larvas

Son larvas con tres estadios larvales. El tercero reúne los caracteres taxonómicos más confiables para su determinación. Son típicas larvas escarabeiformes (curvadas) de color blanco cremoso, blanco amarillento o blanco grisáceo; con la cabeza anaranjada o castaño-rojiza y tres pares de patas amarillentas cerca de la cabeza. Su longitud varía entre 15 y 70 mm con ancho torácico de 3 a 10 mm.

e. Morfología del adulto

La forma del cuerpo de *Phyllophaga* spp en proporciones dentro de un contorno ovalado alargado, con sección subcilíndrica. La relación ancho-largo obtenida para los machos y hembras, según Moran citado por España E. (1994) ofrece un valor medio de 2.27. Esto es que en la mayoría de las especies de longitud total del cuerpo es un poco mayor del doble del ancho humeral. La coloración generalmente es pardo-amarillenta o pardo-rojiza, aunque incluye toda una gama de tonos que abarcan el castaño oscuro, el castaño-rojizo, pardo acanelado. Algunas especies son negras e incluso existen otras con coloraciones metálicas.

f. Ciclo de vida

El ciclo de vida se completa de 1 a 3 años en climas fríos extremos, ya que el factor temperatura es uno de los determinantes principales para la duración del ciclo vital y la especie.

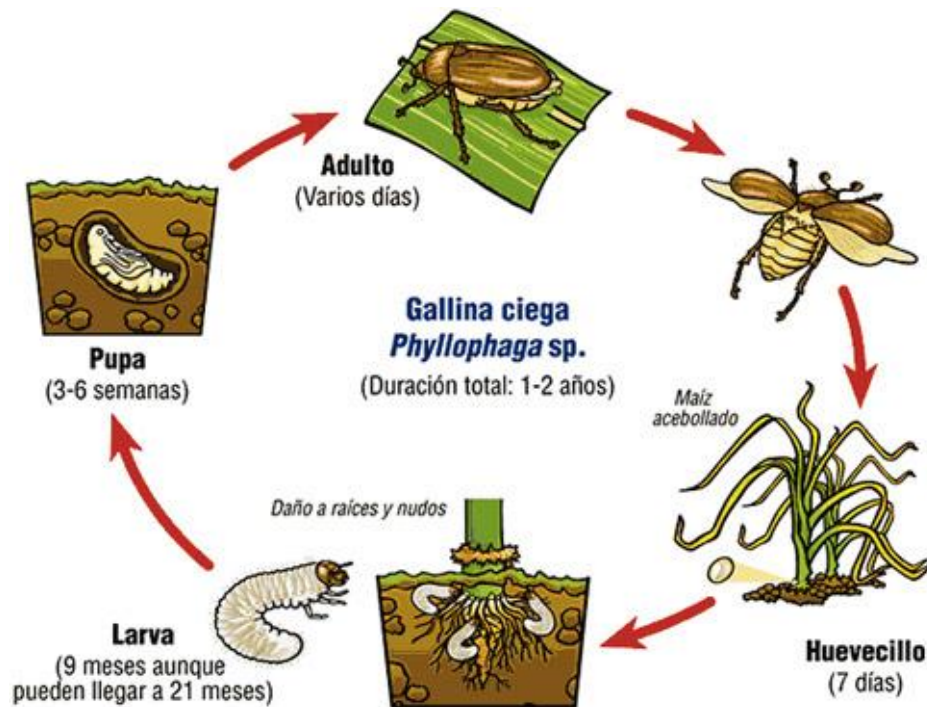


Figura 3: Ciclo biológico de la gallina ciega.

Fuente: Fuminova.blogspot.com

Huevo

Después de la copulación, el macho se muere y la hembra busca el suelo para poner sus huevos. Los huevos blancos opacos y pequeños, son depositados húmedo, normalmente al final de la época seca o inicio de la época lluviosa a la sombra de las plantas huésped o en zonas con alta concentración de materia orgánica, a una profundidad de 0.1 a 0.2 m, en un área aproximada de 0.2 m². El número de huevos promedio, depositados es de 7 a 28 por hembra. Su eclosión ocurre de 2 a 6 semanas después.

Larva

La eclosión de los huevos da lugar a las pequeñas larvas del primer estadio, las cuales se alimentan activamente de raíces finas, tallos subterráneos blandos, bulbos o materia orgánica, durante un período que varía entre 20 y 60 días, hasta aumentar de 15 a 20 veces su peso inicial antes del cambio para el segundo estadio, durante el cual incrementará de 5 a 7 veces su biomasa.

Pupa o crisálida

Cuando la gallina ciega ha terminado de crecer se entierra a 0.2 o 0.3 metros del suelo y se transforma en pupa. La etapa de pupa transcurre durante 30 a 45 días, entre marzo y abril, para luego dar lugar al imago o adulto.

Imago, Adulto

En el mes de mayo cuando comienzan las lluvias, emerge el adulto o ron-ron de mayo, el cual ha permanecido en la celda que utilizó la pupa. En este tiempo ha madurado su aparato reproductor. Al incrementar la humedad y la temperatura el adulto recibe un estímulo que lo induce a salir. En condiciones naturales la longevidad del adulto varía entre 8 y 30 días. Las hembras de algunas especies pueden sobrevivir más de 60 días.

g. Especies con un ciclo de vida de dos años

El ciclo inicial es similar, pero al terminar su segundo instar, la larva entra en una fase de latencia en una celda en el suelo. Al iniciar las lluvias de nuevo, muda y en el tercer instar se alimenta de las raíces, entre mayo y septiembre. El período pupal termina entre febrero y marzo. Conforme la humedad superficial del suelo va disminuyendo, las larvas se profundizan y forman celdillas de tierra del tamaño de una nuez para transformarse en una crisálida. Nunca se sabe exactamente donde aparecerá el insecto, pero siempre es más probable que se presente en terrenos con un porcentaje mayor de materia orgánica en donde abundan los zacates. Los ataques del insecto normalmente son esporádicos, localizados y difíciles de predecir. Un ataque severo puede eliminar una siembra o parte de una siembra enteramente.

h. Daños e Importancia

El daño depende del número de larvas que se encuentren atacando a una cepa de caña. Las plantas cuyas raíces han sido podadas por las larvas, no crecen bien, muestran síntomas de deficiencia de agua y nutrientes. El daño tiende a ser más frecuente cerca de los pastos, los cercos que contienen plantas alimenticias preferidas por los insectos adultos y en suelos bien drenados.

Los adultos se comen las hojas comenzando desde la orilla. Debido a su tipo de vida gregario pueden introducir en ciertas plantas defoliación severa y en otras plantas cercanas poco ataque, causando daño de importancia económica en cultivos como el jocote, cítricos jóvenes y plantas ornamentales.

Las larvas comen las raíces de los trozos de caña recién sembrada, las yemas del tallo y el sistema radicular, causando graves daños que ocasionan gastos de resiembra y la pérdida de muchas cepas, reducen el crecimiento de la planta y el rendimiento de caña por hectárea. Generalmente, esta plaga puede ser de importancia local esporádica en cultivos hortícolas, e inmediatamente después de arar un terreno que tenía pasto.

i. Hospederos

Los adultos tienen una notable preferencia por el follaje de las fagáceas principalmente del género *Quercus*, con una preferencia del 23.7%, las leguminosas arbustivas en un 17.7%, las pináceas en un 11.8%. Las larvas prefieren las raíces de las gramíneas en un 35.7%, las leguminosas en un 14.2% y las rosáceas en un 14.2%, sobre los otros grupos vegetales.

j. Depredadores y parásitos de la gallina ciega

Los adultos de la gallina ciega son depredados por varias especies de mamíferos, aves, reptiles, anfibios, hormigas y arañas. Las larvas pueden ser depredadas por aves, insectos y algunos mamíferos.

Entre los insectos parasitoides de las larvas se han citado los Hymenópteros de la familia Tiphidae, Scoliidae y Pelecimidae (Según Berberet y Helms 1970; Richards y Davies 1977, citados por España).

El Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola (ICTA), en 1990 utilizó una cepa microbiana y un nemátodo entomófago de la familia Diplogasteridae, para el control de gallina ciega.

k. Control

Existen diversos tipos de control entre los cuales están el control cultural, biológico, físico y químico. Entre algunos de los controles culturales tenemos la rotación de cultivos, cultivación temprana de la tierra, aplicación de cal a suelos ligeramente ácidos. Control biológico se ha mencionado que pollos, cerdos y muchos pájaros silvestres comen la gallina ciega. Siendo también atacada por varios insectos parásitos, especialmente las larvas de ciertas avispas las cuales a veces reducen grandemente sus cantidades, y cuyos cocones a veces son abundantes en los campos infestados de gallina ciega.

Los pájaros, especialmente los cuervos y mirlos, a veces siguen el arado, atrapando las gallinas ciegas a medida que son sacadas en el surco. El control químico se efectúa aplicando al suelo algunos pesticidas tales como foxim, parathion metílico, terbufós, clorpirifós, que bajan las poblaciones.

Además se debe combinar control cultural; como volteo de los suelos (dejando expuestas las larvas a la radiación solar directa y a enemigos naturales). Es importante realizar muestreos de campo a fin de mantener informaciones reales de las poblaciones del insecto y en donde se detecten altas poblaciones; además, es recomendable una preparación más profunda del terreno, de manera que salga a la superficie el mayor número posible de larvas.

2.3 Objetivo

- ✓ Comparar el porcentaje de eficacia que tiene cada tratamiento evaluado para el control de las larvas.

2.4 Meta

- ✓ Determinación del porcentaje de mortalidad que los insecticidas causan a las larvas de gallina ciega en cada uno de los diferentes productos utilizados.

2.5 Materiales y métodos

2.5.1 Recursos Humanos

- 2 personas para la recolección de suelo.
- 2 personas para la recolección de larvas de gallina ciega.
- 1 persona para la asistencia en manejo de las larvas.
- Estudiante PPS

2.5.2 Recursos Físicos

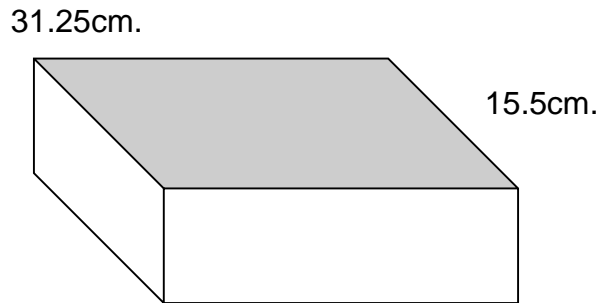
- Dos cubetas
- Una toalla
- Tijera
- Una regadera
- Mas King tape
- 24 bandejas
- Nylon
- Suelo para las bandejas
- 20 libras de maíz
- 5 productos químicos
- 120 larvas de gallina ciega
- Fichas con identificación de tratamientos
- Atomizador
- Guantes
- Lentes
- Mascarilla
- Balanza analítica
- Gotero

2.5.3 Metodología

- El maíz se puso en remojo por un día en las mismas bandejas, tratando de cubrir el fondo de la misma con el maíz.
- Al siguiente día se le quito el agua y se cubrieron con nylon negro por dos días para que simulara estar bajo tierra.
- Se recolecto suelo suficiente para llenar 24 bandejas.
- El suelo se esterilizó con agua hirviendo colocándolo todo en un nylon y se le dejo caer el agua, esto para matar todo insecto presente.
- Al estar menos húmedo se llenó la mitad de cada bandeja con el suelo.
- A los cinco días el maíz ya estaba un poco más grande, aproximadamente 10cm y la raíz se había mezclado con el suelo.
- Posteriormente se continuó con la colecta de larvas de gallina ciega (*Phyllophaga spp*), de 120 a 170 larvas aproximadamente, de las cuales se sacaron las que estaban muertas y las lastimadas.
- Se dividieron en partes iguales obteniendo 20 larvas por cada tratamiento.
- Se colocaron 5 larvas aproximadamente 5cm abajo de la raíz en cada bandeja. Así fue la cantidad de larvas estipulada por bandeja por la dificultad de coleccionar más.
- Durante 2 días se revisaron las bandejas para observar si las larvas continuaban vivas de lo contrario se colocaban más para tener 5 por cada bandeja.
- Las larvas estuvieron alimentándose por una semana.
- Después del periodo de observación (ocho días) se procedió a la aplicación de los productos químicos para la respectiva evaluación de la eficacia que tienen sobre las larvas e identificar cuál es más efectivo.

2.6 Presentación y discusión de resultados

Cálculo para el área de la bandeja:



$$\text{Largo} = 31.25\text{cm}/100 = 0.31\text{m}$$

$$\text{Ancho} = 15.5\text{cm}/100 = 0.155\text{m}$$

$$A = l \times a$$

$$A = 0.31\text{m} \times 0.155\text{m}$$

$$A = 0.0483\text{m}^2$$

El cálculo de la dosificación de los productos para las bandejas se hizo de la siguiente manera.

Cálculo para productos líquidos:

BOINA 48 EC

$$\frac{1.5L}{Ha} \times \frac{1 Ha}{10000m^2} \times 0.0483m^2 = 7.245 \times 10^{-6}L.$$

$$7.245 \times 10^{-6} L \times \frac{1000 ml}{1 L} = 7.245 \times 10^{-3} ml \times 4 \text{ bandejas} = 0.02898 ml.$$

$$0.02898 ml \frac{20 \text{ gotas}}{1 ml} = \mathbf{0.579 \text{ gotas} \approx 1 \text{ gota.}}$$

CURBIX PLUS

El resultado de Curbix Plus fue el mismo que Boina (1 gota) pues la dosificación es de 1.5L por hectárea.

Cálculo para productos granulados:

MOCAP 15 GR

$$\frac{150 kg}{Ha} \times \frac{1 Ha}{10000 m^2} \times 0.0483 m^2 = 7.25 \times 10^{-4} gr.$$

$$7.25 \times 10^{-4} gr \times 4 \text{ bandejas} = \mathbf{0.0029 gr \approx 0.01 gr.}$$

JADE 0,8 GR

$$\frac{11 kg}{Ha} \times \frac{1 Ha}{10000 m^2} \times 0.0483 m^2 = 5.313 \times 10^{-5} kg.$$

$$5.313 \times 10^{-5} kg \times \frac{1000 gr}{1 kg} = 0.05313 gr \times 4 \text{ bandejas} = \mathbf{0.21 gr.}$$

COUNTER

$$\frac{7kg}{Ha} \times \frac{1Ha}{10000m^2} \times 0.0483m^2 = 3.381 \times 10^{-5}kg.$$

$$3.381 \times 10^{-5}kg \times \frac{1000gr}{1kg} = 0.03381gr \times 4bandejas = \mathbf{0.14gr}.$$

Cuadro 6: Productos y dosificación para cada bandeja.

NOMBRE COMERCIAL	DOSIFICACIÓN	I.A.	AREA DE BANDEJA	PRODUCTO POR BANDEJA
Mocap 15 GR	150 Gr/Ha	Etoprofos	0.0483m ²	0.01 gr.
Boina 48 EC	1.5 L/Ha	Clorpirifos	0.0483m ²	1 gota.
Jade 0,8 GR	11 Kg/Ha	Imidacloprid	0.0483m ²	0.21 gr.
Curbix Plus	1.5 L/Ha	Ethiprole+ imidacloprid	0.0483m ²	1 gota.
Counter	7 Kg/Ha	Terbufos	0.0483m ²	0.14 gr.
Testigo Absoluto			0.0483m ²	

Fuente: Autor 2016

El Diseño Completamente al Azar (DCA) tubo 6 tratamientos con 4 repeticiones; quedando el sorteo de la siguiente manera.

Cuadro 7: Sorteo de los 6 tratamientos.

T2 R1	T2 R2	T3 R1	T4 R1	T1 R1	T3 R2
T2 R3	T6 R1	T6 R2	T2 R4	T4 R2	T1 R2
T6 R3	T3 R3	T6 R4	T4 R3	T5 R1	T4 R4
T1 R3	T5 R2	T5 R3	T1 R4	T3 R4	T5 R4

Fuente: Autor 2016

En donde:

T1 = Mocap 15 GR

T2 = Boina 48 EC

T3 = Jade 0,8 GR

T4 = Curbix Plus

T5 = Counter

T6 = Testigo Absoluto

R= Número de repeticiones

- Se identificaron las 24 bandejas, cada una identificada con su tratamiento respectivo y carteles con el título del experimento y los productos utilizados.
- Se tomaron dos lecturas de datos, la primera fue a los tres días después de la aplicación de los productos; y la segunda se hizo a los seis días.

Cuadro 8: Ficha de toma de datos, primera lectura.

Tratamiento	No. Rep.	No. Lar.	Fecha de lectura	Larvas muertas	Larvas vivas
Mocap 15 GR	1	5	17/10/2016	2	3
	2	5	17/10/2016	2	3
	3	5	17/10/2016	4	1
	4	5	17/10/2016	4	1
Boina 48 EC	1	5	17/10/2016	2	3
	2	5	17/10/2016	1	4
	3	5	17/10/2016	1	4
	4	5	17/10/2016	1	4
Jade 0,8 GR	1	5	17/10/2016	3	2
	2	5	17/10/2016	2	3
	3	5	17/10/2016	4	1
	4	5	17/10/2016	4	1
Curbix Plus	1	5	17/10/2016	2	3
	2	5	17/10/2016	1	4
	3	5	17/10/2016	2	3
	4	5	17/10/2016	1	4
Counter	1	5	17/10/2016	3	2
	2	5	17/10/2016	3	2
	3	5	17/10/2016	4	1
	4	5	17/10/2016	3	2
Testigo Absoluto	1	5	17/10/2016	0	5
	2	5	17/10/2016	0	5
	3	5	17/10/2016	0	5
	4	5	17/10/2016	0	5

Fuente: Autor 2016

Cuadro 9: Ficha de toma de datos, segunda lectura.

Tratamiento	No. Rep.	No. Lar.	Fecha de lectura	Larvas muertas	Larvas vivas
Mocap 15 GR	1	5	20/10/2016	1	2
	2	5	20/10/2016	1	2
	3	5	20/10/2016	0	1
	4	5	20/10/2016	0	1
Boina 48 EC	1	5	20/10/2016	1	2
	2	5	20/10/2016	2	2
	3	5	20/10/2016	0	4
	4	5	20/10/2016	2	2
Jade 0,8 GR	1	5	20/10/2016	1	1
	2	5	20/10/2016	1	2
	3	5	20/10/2016	0	1
	4	5	20/10/2016	1	0
Curbitax Plus	1	5	20/10/2016	0	3
	2	5	20/10/2016	1	3
	3	5	20/10/2016	0	3
	4	5	20/10/2016	1	3
Counter	1	5	20/10/2016	1	1
	2	5	20/10/2016	1	1
	3	5	20/10/2016	0	1
	4	5	20/10/2016	0	2
Testigo Absoluto	1	5	20/10/2016	0	5
	2	5	20/10/2016	0	5
	3	5	20/10/2016	0	5
	4	5	20/10/2016	0	5

Fuente: Autor 2016

Cuadro 10: Cantidad de larvas en las dos lecturas.

Larvas por tratamiento	Productos						
Fecha de lectura	Mocap 15 GR	Boina 48 EC	Jade 0,8 GR	Curbitax Plus	Counter	Testigo Absoluto	Total general
17/agosto	12 muertas 8 vivas	5 muertas 15 vivas	13 muertas 7 vivas	6 muertas 14 vivas	13 muertas 7 vivas	0 muertas 20 vivas	49 muertas 71 vivas
20/agosto	14 muertas 6 vivas	10 muertas 10 vivas	16 muertas 4 vivas	8 muertas 12 vivas	15 muertas 5 vivas	0 muertas 20 vivas	63 muertas 57 vivas

Fuente: Autor 2016.

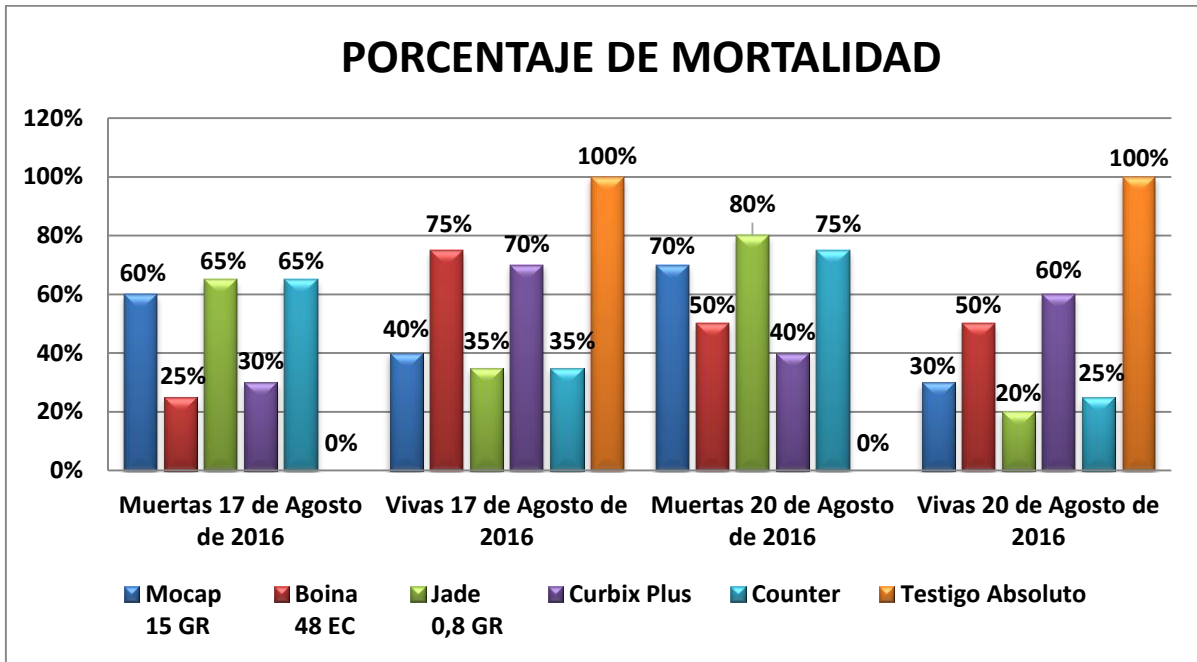


Figura 4: Gráfica de porcentaje de mortalidad de los 5 tratamientos.

Fuente: Autor 2016

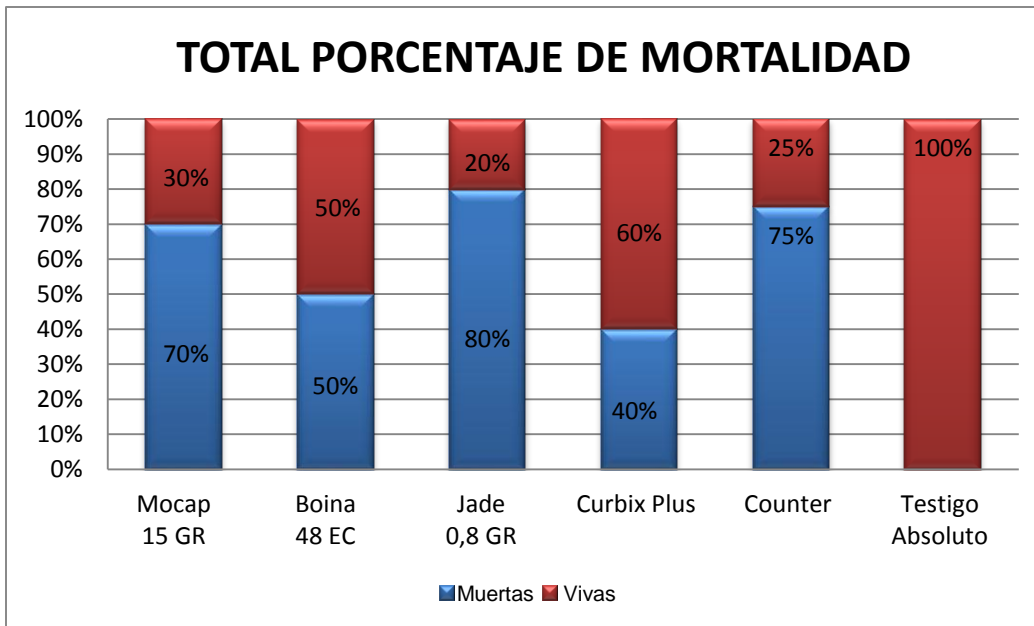


Figura 5: Gráfica de total porcentaje de mortalidad de los 5 tratamientos.

Fuente: Autor 2016

3. Evaluación del nivel de parasitismo con 3 tratamientos biológicos para el control de gallina ciega (*Phyllophaga spp*) bajo condiciones de laboratorio.

3.1 El problema

El control de plagas con productos químicos es cada vez más complicado. Los productos agroquímicos no siempre dan buenos resultados, por lo que en la actualidad se le da mucha importancia a una agricultura más amigable con el ambiente.

En el control integrado de plagas se trabaja de diferente forma. Se recomienda dejar de curar contra plagas y actuar de forma preventiva. El control biológico es el empleo de insectos depredadores y otros patógenos para combatir las plagas, de forma que, evita o reduce el empleo de plaguicidas que dejan residuos tóxicos en las plantas y son dañinos para la salud humana.

En el Ingenio Tuluá se busca poner en práctica métodos de mejoramiento de las actividades que se enfocan en el control de las plagas que se encuentran en la plantación como lo son las plagas de la raíz, por ello busca alternativas que actúen de manera diferente a como lo hacen los productos químicos sin dejar de ser eficientes para contrarrestar dicho problema. Por esto mismo se optó realizar este experimento para conocer el porcentaje de control que se obtiene utilizando tratamientos biológicos, y determinar cuál de 3 tratamientos tiene mejores resultados y realizarlo a nivel de campo.

3.2 Revisión bibliográfica

Nematodo entomopatógeno (*Heterorhabditis spp*)

La atención sobre los nematodos parásitos de insectos se ha incrementado en las dos últimas décadas, ya que resultados de miles investigaciones en el mundo los presentan como agentes promisorios para el control de insectos, moluscos, nematodos de plantas y algunos patógenos de plantas que se encuentran en el suelo (Grewal et al. 2005). Los nematodos entomopatógenos poseen características como gran capacidad de adaptación a nuevos ambientes y a condiciones adversas, resistencia a productos químicos, alta especificidad por insectos, inocuidad al ambiente y mamíferos y compatibilidad con otros entomopatógenos, resaltando su importancia en programas de manejo integrado de plagas (Sáenz 2005).

Los nematodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis* son agentes importantes para el control biológico de plagas. Viven en el suelo y son parásitos capaces de infectar la mayoría de órdenes y familias de insectos (Klein 1990). Los heterorhabditidos tienen un complejo ciclo de vida que incluye generaciones hermafroditas y amfimícticas que ocurren dentro del hospedero parasitado muchas veces y superponiéndose (Burnell y Stock 2000). Una característica particular de las especies de este género es que guardan una relación mutualista con un simbionte bacteriano del género *Photorhabdus* (Enterobacteriaceae) que alojan en su intestino. Esta relación le da una ventaja competitiva al parásito pues mata a su hospedero durante las primeras 24 a 48 horas después de infección (Bennett y Clarke 2005).

El estado infectivo de los heterorhabditidos no se alimenta, está morfológica y fisiológicamente adaptado para la dispersión, sobrevivir largos periodos en el suelo, buscar e infectar su hospedero. Este estado es conocido

como juvenil infectivo (JI). Los JI de los heterorhabdítidos responden al insecto hospedero en el suelo por quimiotaxis. Los JI ingresan al insecto a través de aberturas naturales (boca, ano, espiráculos) o penetran las membranas intersegmentales del hospedero mediante un diente en la parte anterior. Una vez en el hemocele del insecto, los JI liberan sus bacterias simbiotes, las cuales se multiplican rápidamente secretando toxinas y enzimas líticas. Estas secreciones son letales para los insectos que mueren dentro de las 48 horas (Forst et al. 1997). Las células bacterianas y tejidos del hospedero proporcionan un medio rico para el crecimiento y reproducción de Heterorhabditis.

Los nematodos pueden desarrollar dos o tres generaciones dentro del hospedero y emerger al suelo en dos semanas (Akhurst y Bedding 1986). Aunque los registros mundiales sobre el número de especies de este género son limitados y reportan 12 especies descritas hasta el momento (López 2008).

Hongo entomopatógeno (*Paecilomyces*)

a. Taxonomía

<u>Reino:</u>	<u>Fungi</u>
<u>Filo:</u>	<u>Ascomycota</u>
<u>Clase:</u>	<u>Eurotiomycetes</u>
<u>Orden:</u>	<u>Eurotiales</u>
<u>Familia:</u>	<u>Trichocomaceae</u>
<u>Género:</u>	Paecilomyces

b. Relación patógeno-hospedero

Los hongos entomopatógenos son de gran importancia dentro de los agroecosistemas por su capacidad natural para regular las poblaciones de

insectos, la cual depende de la susceptibilidad del hospedero o de la asociación patógeno-hospedero. En este último caso, el insecto hospedero puede ejercer una presión de selección que favorezca a pocos genotipos del patógeno; es decir, hay una selección natural de estos microorganismos en términos de especialización con respecto al hospedero (Maurer *et al.*, 1997; St. Leger *et al.*, 1997). Para que la manifestación epizootica de los hongos entomopatógenos tenga lugar, los factores bióticos y abióticos tienen una enorme influencia. Entre los factores abióticos que afectan la viabilidad y la persistencia de los hongos entomopatógenos en el campo se encuentran los rayos ultravioleta, la temperatura, la humedad relativa y los funguicidas. La susceptibilidad y la relación con los hospederos se relacionan con los nutrimentos presentes en los insectos, que son el medio para la propagación, dispersión y persistencia de los hongos. Las esporas de los entomopatógenos tienen requerimientos específicos de agua y temperatura, así como de otros factores ambientales que en conjunto funcionan como inductores para la activación de receptores presentes en el patógeno y que les permiten llevar a cabo el proceso infectivo sobre el hospedero (Hajek, 1997).

Los hongos entomopatógenos, a diferencia de otros agentes entomopatógenos, no necesitan ser ingeridos por el insecto para controlarlo, pudiendo ocurrir la infección por contacto y adhesión de las esporas a las partes bucales, membranas intersegmentales o a través de los espiráculos (Charnley, 1997; Jeffs *et al.*, 1997; Kershaw y Talbot, 1998).

Los mayores impedimentos para el uso de estos microorganismos incluyen métodos de producción de bajo costo, dificultad en la producción de formulaciones para mantener su alta viabilidad, virulencia y su larga vida de anaquel. Se considera que el futuro comercial de los hongos como agente de control biológico es muy promisorio, ya que solo se conoce la actividad de muy pocas especies.

c. Ciclo de vida



Figura 6: Ciclo de desarrollo de un hongo entomopatógeno.

Fuente: Laboratorio biomacacr.com

Hongo entomopatógeno (*Metarhizium anisopliae*)

a. Taxonomía

Reino:	Fungi
Subreino:	Dikarya
Filo:	Ascomycota
Clase:	Sordariomycetes
Orden:	Hypocreales

Família: Clavicipitaceae
Género: Metarhizium
Especie: M. anisopliae

Metarhizium es un hongo imperfecto de color verde oliva, pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes. Su reproducción es asexual, en conidióforos que nacen a partir de hifas ramificadas. Este hongo es capaz de adherirse a la cutícula de los insectos y de entrar a su interior por las partes blandas o por vía oral (14)

Una vez dentro del hospedero, las esporas germinan y el micelio produce toxinas que le producen la muerte al huésped en cuestión de 3 a 4 días. Los síntomas de la enfermedad en el insecto son la pérdida de sensibilidad, movimientos descoordinados y parálisis. Cuando el insecto muere queda momificado. Si las condiciones de humedad son óptimas, se inicia de nuevo el ciclo, el micelio cubre el insecto, se producen esporas, las cuales son arrastradas por el viento y las lluvias, pudiendo atacar nuevamente otro insecto (14)

El empleo de hongos entomopatógenos en el campo comenzó a fines del siglo XIX, sin embargo, en Brasil fue a partir de 1964, después de la aparición epizootica de *Metarhizium anisopliae* sobre *Cercópodos* de la caña de azúcar es que adquirió importancia su estudio por parte de los investigadores. Se ha aplicado este entomopatógeno hasta en 100.000 ha/año de caña de azúcar para el control de *Mahanarva posticata*.

Este hongo se encuentra en la naturaleza, en rastrojos de cultivos, estiércol, en el suelo, las plantas, etc., logra buen desarrollo en lugares frescos, húmedos y con poco sol. Los hongos entomopatógenos constituyen el grupo de mayor importancia en el control biológico de insectos plaga,

principalmente en los chupadores o succionadores ya que estos no pueden ingerir patógenos que infectan a través del tracto digestivo (14)

M. anisopliae ataca naturalmente más de 300 especies de insectos de diversos órdenes.

Para el ciclo de vida de los hongos entomopatógenos, desarrollan las siguientes fases sobre su hospedante: germinación, formación de apresorios, formación de estructuras de penetración, colonización y reproducción (14)

3.3 Objetivo

- ✓ Determinar el nivel de patogenicidad en las larvas con tratamiento biológico.

3.4 Meta

- ✓ Encontrar un control biológico eficaz para el control de larvas de gallina ciega.

3.5 Materiales y métodos

3.5.1 Recursos Humanos

- 2 personas para la recolección de suelo.
- 2 personas para la recolección de larvas de gallina ciega.
- 1 persona para la asistencia en manejo de las larvas.
- Estudiante PPS

3.5.2 Recursos Físicos

- Una cubeta
- Una toalla
- Mas King tape

- 200 cajitas larvarias
- Suelo para las cajitas
- 3 tratamientos biológicos
- 200 larvas de gallina ciega
- Fichas de identificación de tratamientos
- Pizeta
- Beaker de 100ml
- Probeta de 10ml
- Estufa agitadora
- 4 bandejas
- Agua desmineralizada estéril
- 3 Erlenmeyer
- Cloro al 0.1%
- Pinzas
- Papel Mayordomo esterilizado
- Bolsas de polipropileno para meter utensilios en autoclave
- Colador

3.5.3 Metodología

Metodología para aplicación de *Heterorhabditis spp*

- Como primer paso, se llenaron las cajas petri plásticas con suelo a la línea de la caja, antes de cubrir enteramente la caja, de tal manera que los insectos tuvieran movilidad en el espacio reducido.
- Se colocó una larva por caja petri, siendo 10 larvas por repetición.
- Los nematodos que se utilizaron para la inoculación fueron verificados primero que no tuviera ácaro. En caso hubieran tenido ácaro, es necesario tamizar de nuevo para eliminar la contaminación.
- Se utilizó una caja petri con nematodo. Se escogió la caja con mayor cantidad. Esta caja se lavó en la gaza presente en los frascos de compota.

- Se calculó la cantidad necesaria para inocular todos los insectos del tratamiento.
- Seguidamente se tomó una muestra en una caja petri para verificar la presencia de nematodos. Si en caso, la cantidad fuera escasa, se lava otra caja petri.
- Luego de tener el inóculo, se le agregó una cantidad mínima de antibiótico al inóculo para evitar la presencia de bacterias y/u hongo.
- El cálculo para conocer la cantidad de aplicación de nematodos por cada caja, se hizo de la siguiente manera:
- 60 millones se dividieron en una hectárea, el resultado se multiplica por el área de la caja. Lo obtenido es la cantidad de nematodos que luego se diluyeron en 500ml de agua.
- De la anterior dilución se tomaron 10ml que nuevamente se diluyeron en otros 500ml de agua que se agitó por 2 minutos.
- Se procedió a la inoculación de los insectos.
- Por cada caja petri se agregó una medida con pipeta de 1 mililitro de inóculo, cuidando que cayera encima de la larva. Siendo 50 nematos por 1 mililitro en cada caja.
- Las 10 cajitas larvarias por cada repetición fueron guardadas en un recipiente de plástico tapado.
- Este procedimiento se realizó por cada uno de los nematodos en el pie de cría.
- Se tomaron dos lecturas de resultados, la primera fue a los ocho días después de inoculación, y la segunda a los catorce días.

Metodología para aplicación de *Paecilomyces*

- Como primer paso, se llenaron las cajas petri plásticas con suelo a la línea de la caja, antes de cubrir enteramente la caja, de tal manera que los insectos tuvieran movilidad en el espacio reducido.
- Se colocó una larva por caja petri, siendo 10 larvas por repetición.

- Se tomó 22 gramos de *Peacilomyces* diluidos en 400 mililitros de agua esterilizada para las 50 cajas petri. La cantidad de gramos utilizado es según el área de la parcela.
- Se colocó en la estufa agitadora por 5 minutos.
- Se procedió a la inoculación de insectos.
- Seguidamente se aplicó una medida con pipeta de 1 mililitro a cada caja, cuidando que cayera encima de la larva.
- Las 10 cajitas larvarias por cada repetición fueron guardadas en un recipiente de plástico tapado.
- Se tomaron dos lecturas de resultados, la primera fue a los ocho días después de inoculación, y la segunda a los catorce días.

Metodología para aplicación de *Metarhizium anisopliae*

- Como primer paso, se llenaron las cajas petri plásticas con suelo a la línea de la caja, antes de cubrir enteramente la caja, de tal manera que los insectos tuvieran movilidad en el espacio reducido.
- Se colocó una larva por caja petri, siendo 10 larvas por repetición.
- Se tomó 23 gramos de *Metarhizium* diluidos en 400 mililitros de agua esterilizada para las 50 cajas petri. La cantidad de gramos utilizado es según el área de la parcela.
- Se colocó en la estufa agitadora por 5 minutos.
- Se procedió a la inoculación de insectos.
- Seguidamente se aplicó una medida con pipeta de 1 mililitro a cada caja, cuidando que cayera encima de la larva.
- Las 10 cajitas larvarias por cada repetición fueron guardadas en un recipiente de plástico tapado.
- Se tomaron dos lecturas de resultados, la primera fue a los ocho días después de inoculación, y la segunda a los catorce días.

3.6 Presentación y discusión de resultados

Cuadro 11: Ficha de toma de datos, primera lectura.

Tratamiento	No. Rep.	No. Lar.	Fecha de lectura	Parasitada	Mortalidad	Observaciones
Nematodo Heterorhabditis	1	10	19/10/2016	0	0	--
	2	10	19/10/2016	0	0	--
	3	10	19/10/2016	0	0	--
	4	10	19/10/2016	0	0	--
	5	10	19/10/2016	0	0	--
Hongo Paecilomyces	1	10	19/10/2016	0	0	--
	2	10	19/10/2016	0	0	--
	3	10	19/10/2016	0	0	--
	4	10	19/10/2016	0	0	--
	5	10	19/10/2016	0	0	--
Metarhizium anisopliae	1	10	19/10/2016	0	0	--
	2	10	19/10/2016	0	0	--
	3	10	19/10/2016	0	1	Por ácaro
	4	10	19/10/2016	0	1	Por ácaro 1 Parasitoide
	5	10	19/10/2016	0	0	--
Testigo absoluto	1	10	19/10/2016	0	0	--
	2	10	19/10/2016	0	0	--
	3	10	19/10/2016	0	0	--
	4	10	19/10/2016	0	0	--
	5	10	19/10/2016	0	0	--

Fuente: Autor 2016

- En la primera lectura de los tratamientos Heterorhabditis, Paecilomyces y Metarhizium, no se encontró parasitismo ni mortalidad de larvas. En Metarhizium se hallaron 2 larvas muertas a causa de ácaros, además en una de ellas se encontró un parasitoide, posiblemente de abeja.

Cuadro 12: Ficha de toma de datos, segunda lectura.

Tratamiento	No. Rep.	No. Lar.	Fecha de lectura	Parasitada	Mortalidad	Observaciones
Nematodo Heterorhabditis	1	10	25/10/2016	0	0	--
	2	10	25/10/2016	0	0	--
	3	10	25/10/2016	0	0	--
	4	10	25/10/2016	0	0	--
	5	10	25/10/2016	1	0	Parasitoide
Hongo Paecilomyces	1	10	25/10/2016	0	0	--
	2	10	25/10/2016	0	0	--
	3	10	25/10/2016	0	1	Por ácaro
	4	10	25/10/2016	0	0	--
	5	10	25/10/2016	0	0	--
Metarhizium anisopliae	1	10	25/10/2016	0	0	--
	2	10	25/10/2016	0	1	Sin movimiento
	3	10	25/10/2016	0	1	Sin movimiento
	4	10	25/10/2016	0	0	--
	5	10	25/10/2016	0	1	Sin movimiento
Testigo absoluto	1	10	25/10/2016	0	1	Por ácaro
	2	10	25/10/2016	0	0	--
	3	10	25/10/2016	0	0	--
	4	10	25/10/2016	0	1	Por ácaro
	5	10	25/10/2016	0	0	--

Fuente: Autor 2016

- En la segunda lectura de los tratamientos se encontraron pocos resultados en el desarrollo de los nematodos y de los hongos. Para Heterorhabditis en una repetición se halló un parasitoide en una larva el cuál no había terminado de alimentarse de ella, en Paecilomyces se encontró una larva muerta a causa de los ácaros, en Metarhizium se observó 1 larva sin movimiento en tres repeticiones, este es uno de los síntomas de la enfermedad que se presenta en el insecto antes de morir; en el testigo absoluto también se encontraron 2 larvas muertas por ácaros.

V. CONCLUSIONES

- Se logró producir aproximadamente 70 millones de nematodos por las 10 bandejas. Para conocer el resultado final es necesario esperar de 7 a 10 días y poder contar los nematodos para conocer la cantidad de estos por bandeja.
- Jade 0,8 GR, (T3) el más alto, causó el 80% de mortalidad, seguido de Counter con 75% y Mocap 15 GR que causó un 70% de mortalidad, estos resultados se observaron a los 7 días de aplicación. Por lo cual son los más viables para obtener resultados satisfactorios en la eliminación o disminución del daño que esta plaga causa en el cultivo de caña de azúcar del Ingenio Tuluá.
- Dos de los cinco productos químicos evaluados T2 y T4 fueron los que tuvieron los resultados más bajos en el porcentaje de mortalidad de las larvas de gallina ciega (*Phyllophaga spp*).
- En la primera lectura de patogenicidad no se observaron larvas parasitadas en ninguno de los tres tratamientos, esto se debió a la cantidad de días transcurridos, para lo cual se debió esperar ocho días más para ver la eficacia de estos en el control de las larvas.
- En la segunda lectura los resultados variaron muy poco en donde los tratamientos presentaron un desarrollo bastante bajo y no se observaron larvas parasitadas por nematodos, tampoco mortalidad de éstas en el caso de paecilomyces y metarhizium.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con la metodología utilizada por CENGICAÑA para la producción de nematodos entomopatógenos y hacerla en cantidades mayores, para utilizarlos en el control de plagas de la raíz que afecten al cultivo de caña de azúcar.
- Para la correcta realización de la metodología para producir nematodos efectuada en el laboratorio de control de calidad de plagas del Ingenio Tululá, se recomienda contar con todos los materiales necesarios como autoclave, estufa agitadora, cámara potter, licuadora; pues el laboratorio no cuenta con estos y evitaría llevarla a cabo sin ellos.
- Se recomienda utilizar los productos de los tratamientos T3 (Jade 0,8 GR), T5 (Counter) y T1 (Mocap 15 GR) en futuros ensayos en campo, ya que poseen una efectividad rápida a nivel de laboratorio en la mortalidad de gallina ciega.
- El tratamiento Jade 0,8 GR es el que se recomienda utilizar en el campo para controlar la infestación de larvas de gallina ciega, pues de los tres más altos en el porcentaje de control es el más amigable con los nuevos tratamientos biológicos que se pretenden utilizar en el ingenio Tululá para el control de insectos chupadores y masticadores del cultivo de caña de azúcar.
- Se deben realizar más pruebas a nivel de laboratorio con nuevos productos, para verificar la efectividad de estos con los utilizados en el Ingenio Tululá, y así contar con un margen más amplio de referencia.
- Se recomienda implementar la utilización de tratamientos biológicos para el control de plagas, ya que no son dañinos para el ambiente, otros insectos ni para la salud humana.
- Para la utilización de tratamientos biológicos se recomienda tomar en cuenta el tiempo en que estos comienzan a actuar, pues su control se observa en un periodo más largo de días, pero esto no implica que deje de ser efectivo, incluso superan frecuentemente los resultados obtenidos mediante productos químicos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Akhurst, R. y Bedding, R.A. (1986). Natural occurrence of insect parasitic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae) in soil in Australia. *Journal of the Australian Entomological Society*. (25); 241-244.
2. Badilla, F. (1994). *Situación actual de las diferentes plagas insectiles en el cultivo de la caña de azúcar en Costa Rica*. In Simposio sobre Manejo Integrado de Plagas de la caña de azúcar en Costa Rica 1,1994. San José, C. R. Resúmenes.
3. Bennett, H. P. y Clarke, D. J. (2005). The pbg PE operon in *Photorhabdus luminescens* is required for pathogenicity and symbiosis. *Journal. Bacteriology*. (187); 77-84.
4. Berberet, R. C. & Helms, T. J. (1972). Comparative anatomy and histology of selected systems in larval and adult *Phyllophaga anxia* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Ann. Entomology. Soc. Am.* (65); 1026-1053.
5. Burnell, A. M. y Stock, S. P. (2000). Heterorhabditis, Steinernema and their bacterial symbionts lethal pathogens of insects. *Nematology*. 2 (1): 31-42.
6. Charnley, A. (1997) *Entomopathogenic Fungi and their role in pest control*. En Wicklow D, Soderstrom M (Eds.) *The Mycota IV*. Environmental and Microbial Relationships. Springer. Heidelberg, Alemania.

7. Ciclo biológico de gallina ciega. (s.f.) Recuperado el 11 de octubre de 2016 de <http://fuminova.blogspot.com/2012/06/gallinita-ciega-o-nixticuil-el-peor.html>
8. Ciclo biológico de un hongo entomopatógeno. (s.f.) Recuperado el 12 de octubre de 2016 de <http://fuminova.blogspot.com/2012/06/gallinita-ciega-o-nixticuil-el-peor.html>
9. España, E. 1994. Determinación de los géneros del ronrón de mayo, Coleóptera familia Scarabaeidae, en el cantón Chacalté Sis, Cuyotenango, Suchitepéquez. (Investigación Inferencial. Agronomía. EPSA) Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Agronomía. Guatemala, GT.:
10. Forst, S., Dowds, B., Boemare, N. y Stackebrand, T. E. (1997). Xenorhabdus and Photorhabdus spp. Bugs that kill bugs. *Annual Review of Microbiology*. (51); 47-72.
11. Gallina ciega. (s.f.) Recuperado el 11 de octubre de 2016 de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_1814.pdf
12. Grewal, P. S., Koppenhofer, A. M. y Choo, H.Y. (2005). *Lawn, turfgrass and pasture applications*. pp. 115-146. En: Grewal, P. S., Ehlers, R-U., Shapiro-Ilan, D. (eds). *Nematodes as biocontrol agents*. CABI, New York, USA.

13. Hajek, A.E. (1997) Ecology of terrestrial fungal entomopathogens. *Adv. Microb. Ecol.* (15); 193-249.
14. Jeffs, L.B., Xavier, I.J., Matai, R.E. y Khachatourians, G.G. (1997) Relationships between fungal spore morphologies and surface properties for entomopathogenic members of the genera *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces*, *Tolypocladium*, and *Verticillium*. *Can. J. Microbiology.* (45); 936-948.
15. Kershaw, M.J. y Talbot, N.J. (1998). Hydrophobins and repellents: proteins with fundamental roles in fungal morphogenesis. *Fungal Genet. Biol.* (23); 18-33, 83.
16. King, A. (1994). *Biología e identificación de Phyllophaga de importancia económica en América Central*. En Seminario-Taller Centroamericano sobre la *Biología y Control de Phyllophaga*. Turrialba, C.R.: CATIE.
17. Klein, M. G. (1990). *Efficacy against soil-inhabiting insect pest*. pp. 195-210. En: Gaugler, R.; Kaya, H. K. (eds). *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press, Boca Ratón, Florida, USA.:
18. López, N. J.C. (2008). *Nemátodos para el control de insectos plaga*. pp. 150-183. En: Bustillo, A. (ed). *Los insectos y su manejo en la caficultura colombiana*. Chinchina (Colombia). CENICAFÉ, Federación Nacional de Cafeteros.

19. Macz, L.V. (1998). *Evaluación de las fluctuaciones poblacionales, distribución vertical y disposición parcial de chinche hedionda (Scaptoris talpa), gallina ciega (Phyllophaga spp) y gusano alambre (Agriotes sp y Conoderus sp) período 1995-1997, en el cultivo de la caña de azúcar (Saccharum officinarum L.) en la finca El Baúl, Santa Lucía Cotzumalguapa, Escuintla.* (Investigación Inferencial Agronomía, (EPSA.) Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Agronomía. Guatemala, GT.:
20. Maurer, P., Couteaudier, Y., Girard, P.A., Bridge, P.D. y Riba, G. (1997) Genetic diversity of *Beauveria bassiana* and relatedness to host insect range. *Mycol. Res.* (101); 159-164.
21. Nemátodo entomopatógeno. (s.f.) Recuperado el 11 de octubre de 2016 de [http://plaguicidas-y-alternativas.org/contenido/2011-11-16-nematodos-entomopat %C3%B3genos](http://plaguicidas-y-alternativas.org/contenido/2011-11-16-nematodos-entomopat%C3%B3genos)
22. Nemátodo entomopatógeno. (s.f.) Recuperado el 11 de octubre de 2016 de <http://www.horticom.com/pd/imagenes/66/980/66980.pdf>
23. Picoaga, A., Abelleira, A. & Mansilla, J.P. (s.f.) *Estación Fitopatológica do Areeiro. Servicio Agrario. Excma. Diputación Provincial de Pontevedra* 4. (EFA 50/O6: N. Entomopatógenos). Recuperado el 11 de octubre de 2016 de <http://www.efa-dip.org/comun/publicaciones/FTecnicas/Download/50ok%20nematodos%20fitopatogenos.pdf>

24. Richards, O.W. & Davies, R.G. (1977). *Imms' general textbook of entomology*. (10th ed.). London: *Chapman & Hall*. ISBN 978-0-412-15210-8.
25. Rosales, F. (2001). *Determinación de nivel de daño económico para el gusano alambre Agriotes sp. en caña de azúcar Saccharum sp., finca Belén, ingenio La Unión S.A. Santa Lucia Cotzumalguapa, Escuintla*. (Tesis Ing. Agr.) USAC. Facultad de Agronomía. Guatemala, GT.:
26. Sáenz, A. A. (2005). Importancia de los nemátodos entomopatógenos para el control biológico de plagas en palma de aceite. *Palmas*. 26 (2); 41-57.
27. St. Leger, R.J. y Roberts, D.W. (1997) Engineering improved mycoinsecticides. *Trends Biotechnol.* (15); 83-87.



Vo. Bo. Licda. Ana Teresa de González
Bibliotecaria CUNSUROC.

VIII. ANEXOS



Figura 7: Solución madre

Fuente: Autor 2016



Figura 9: Mezcla de nematodos en la estufa agitadora.

Fuente: Autor 2016

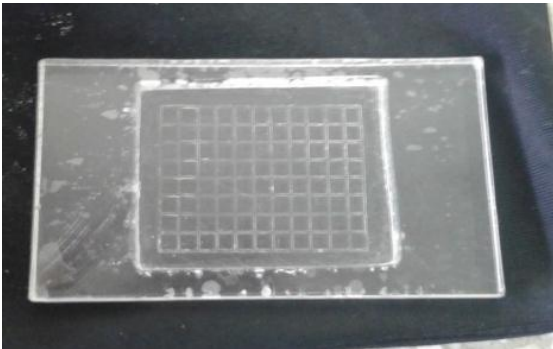


Figura 8: Cámara potter

Fuente: Autor 2016



Figura 10: Conteo de nematodos con la cámara potter en el microscopio.

Fuente: Autor 2016



Figura 11: Colocación del maíz en las bandejas (arriba), maíz en remojo (abajo).

Fuente: Autor 2016



Figura 12: Materiales utilizados para la germinación de maíz y esterilización del suelo.

Fuente: Autor 2016



Figura 13: Proceso de crecimiento de maíz

Fuente: Autor 2016



Figura 14: Agua hirviendo para esterilizar el suelo.

Fuente: Autor 2016



Figura 15: Esterilización del suelo

Fuente: Autor 2016



Figura 16: Colocación del maíz en el suelo ya esterilizado

Fuente: Autor 2016



Figura 17: Larvas de gallina ciega para el experimento

Fuente: Autor 2016



Figura 18: Colocación de larvas en las bandejas.

Fuente: Autor 2016



Figura 19: Observación de larvas alimentándose durante ocho días.

Fuente: Autor 2016



Figura 20: Productos químicos a utilizar

Fuente: Autor 2016



Figura 21: Medición de productos granulados en balanza analítica

Fuente: Autor 2916



Figura 22: Aplicación de productos granulados

Fuente: Autor 2016



Figura 23: Medición de productos líquidos con gotero
Fuente: Autor 2016



Figura 24: Aplicación de productos líquidos
Fuente: Autor 2016



Figura 25: Presentación de ensayo con identificación de tratamientos.

Fuente: Autor 2016



Figura 26: Larvas muertas de los 5 tratamientos

Fuente: Autor 2016



Figura 27: 1ra., lectura de resultados

Fuente: Autor 2016



Figura 28: 2da., lectura de resultados

Fuente: Autor 2016



Figura 29: Larvas muertas de los 5 tratamientos.

Fuente: Autor 2016



Figura 30: Mezcla de producto biológico en estufa agitadora

Fuente: Autor 2016



Figura 31: Productos biológicos diluidos en agua. *Metarhizium* (izquierda), *Paecilomyces* (centro) y *Nematodo Heterorhabditis* (derecha).

Fuente: Autor 2016



Figura 32: Aplicación de tratamientos biológicos a cada cajita larvaria con la pipeta.

Fuente: Autor 2016

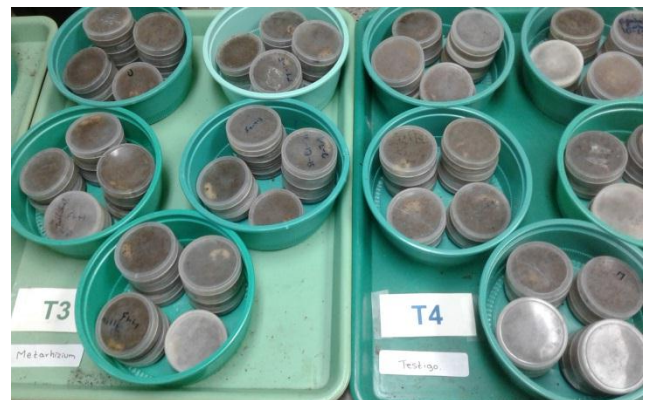


Figura 33: Presentación de ensayo con identificación de tratamientos

Fuente: Autor 2016



Figura 34: 1ra. Lectura de resultados.

Fuente: Autor 2016



Figura 35: larva muerta a causa de parasitoides

Fuente: Autor 2016



Figura 36: larvas muertas por ácaros y parasitoides colocadas en cámara húmeda

Fuente: Autor 201



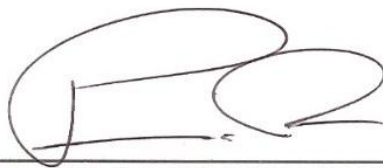
Figura 37: 2da. Lectura de resultados. Larva muerta por ácaros (izquierda), larva muerta por parasitoide (derecha).

Fuente: Autor 2016

Mazatenango, 11 de noviembre de 2016.



Esperanza Jasdi Yosim/Escarlet Rodríguez Santos
Estudiante de la carrera de Técnico en Producción Agrícola



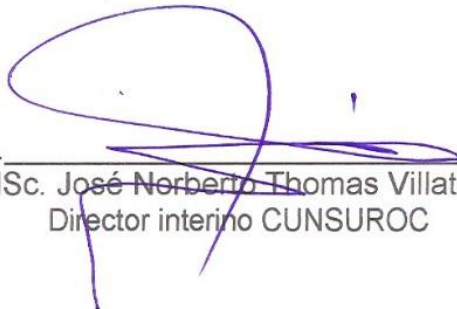
Vo. Bo. _____
Ing. Agr. Héctor Posadas Ruiz
Supervisor – Asesor



Vo. Bo. _____
Ing. Agr. M.Sc. Carlos Antonio Barrera Arenales
Coordinador Académico



“IMPRIMASE”



Vo. Bo. _____
MSc. José Norberto Thomas Villatoro
Director interino CUNSUROC

